

Aus der Medizinischen Klinik der
Justus Liebig-Universität Gießen

Direktoren: Prof. Dr. Kühn, Prof. Dr. Lasch, Prof. Dr. Dengler

Abteilung: Prof. Dr. H. G. Lasch

**Über Aktivitätsveränderungen des Fibrinstabilisierenden
Faktors (FSF) beim SANARELLI - SHWARTZMAN - Phäno-
men des Kaninchens. Studien über die Anwendbarkeit
von Hemmkörpern zur Verminderung der Gerinnsel-
stabilität in vivo.**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der
Medizinischen Fakultät
der
Justus Liebig-Universität
Gießen

vorgelegt von
Andreas Körting
aus Leipzig

Gießen 1969

Aus der Medizinischen Klinik der
Justus Liebig-Universität Gießen

Direktoren: Prof. Dr. Kühn, Prof. Dr. Lasch, Prof. Dr. Dengler

Abteilung: Prof. Dr. H. G. Lasch

Über Aktivitätsveränderungen des Fibrinstabilisierenden Faktors (FSF) beim SANARELLI - SHWARTZMAN - Phänomen des Kaninchens. Studien über die Anwendbarkeit von Hemmkörpern zur Verminderung der Gerinnsel-stabilität in vivo.

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der
Medizinischen Fakultät
der
Justus Liebig-Universität
Gießen

vorgelegt von
Andreas Körting
aus Leipzig

Gießen 1969



Dekan: Prof. Dr. E. Habermann

Referent: Prof. Dr. H. G. Lasch

Korreferent: Prof. Dr. O. Grüner

Meinen lieben Eltern in

Dankbarkeit gewidmet



Digitized by the Internet Archive
in 2026

A. Einleitung:

1. Gerinnung und Fibrinolyse.	1
2. Biologie des Faktors XIII.	3
3. Biochemische Beeinflußbarkeit der Gerinnselstabilität.	8
4. Das SANARELLI-SHWARTZMAN-Phänomen als typisches Beispiel einer Verbrauchskoagulopathie.	10
5. Beeinflußbarkeit des intravaskulären Gerinnungsprozesses über einen hemmenden Mechanismus, der in der Endphase der Gerinnung eingreift.	22
6. Fragestellung.	23

B. Methodik:

1. Blutentnahme	24
2. Versuchsanordnung	25
3. Allgemeine Gerinnungsanalysen	
a) Bestimmung der FSP-Aktivität im Plasma	30
b) Bestimmung des Plasmafibrinogens	33
c) Thrombelastographie	34
d) Hämatokrit	35
e) Bestimmung der Thrombocyten	35
f) Globalteste	36
g) Bestimmung einzelner Gerinnungsfaktoren	39

C. Ergebnisse:

I. Tierexperimentelle Untersuchungen am
 SANARELLI-SHWARTZMAN-Phänomen: 43

1. Gruppe: Verhalten des Fibrinstabilisierenden 43

Faktors im Verlaufe der experimentellen Verbrauchskoagulopathie des Kaninchens am Beispiel des generalisierten SSP.

2. Gruppe: Veränderungen des Fibrinstabilisierenden Faktors im Verlaufe des generalisierten SSP am heparinisierten Kaninchen. 58

II. Glycinäthylester, ein Hemmer der Fibrinpolymerisation und sein Einfluß auf das Gerinnungssystem in vitro. 62

III. Einfluß von Glycinäthylester auf das Gerinnungssystem in vivo:

3. Gruppe: Einfluß einer einmaligen GEF-Infusion auf die Blutgerinnung des Kaninchens. 73

4. Gruppe: Beeinflussung der Blutgerinnung des Kaninchens durch kombinierte intravenöse Verabfolgung von Glycinäthylester und Endotoxin im Abstand von 24 Stunden. 81

D. Diskussion: 95

E. Zusammenfassung: 109

F. Literatur: 110

A. Einleitung:

1. Gerinnung und Fibrinolyse:

Unter physiologischen Bedingungen ist der Ablauf der Blutgerinnung durch die normale Funktion von Blutgerinnungsfaktoren, Plättchen und Zirkulation gesichert. Veränderungen des hämostatischen Potentials können als Symptom des gestörten Gerinnungsablaufes zu thromboembolischen, sowie hämorrhagischen Komplikationen führen. Von ausschlaggebender Bedeutung für die Hämostase ist ein Wechselspiel zwischen Gefäßwand und Gefäßinhalt, das zur Aufrechterhaltung des Blutflusses und der Integrität der Gefäßwände beiträgt. Das aktuelle hämostatische Potential ist das Ergebnis eines Gleichgewichtes zwischen Bildung und Inaktivierung gerinnungshemmender wie -fördernder Prinzipien, wodurch seine Störungen zu einem Problem der Bilanz werden.

Plasmatische wie zelluläre Gerinnungsfaktoren haben nur eine kurze Halbwertszeit (MENACHE, 86, LOELIGER, 61), wohl als Folge ihres schnellen Umsatzes, sowie eines Verbrauches in der peripheren Strombahn, wo dauernd eine geringe Aktivierung stattfindet (LASCH und ROKA, 56, 57). Diese "latente Gerinnung", die in gleichem Maße auch die Thrombocyten einschließt, erklärt das laufende Verschwinden der Gerinnungsfaktoren aus dem Blut. Ihr unterschwelliger Ablauf unterliegt mannigfachen steuernden Regulationsmechanismen, zu denen neben den spezifischen Hemmern und Akzeleratoren ebenso eine "latente Fibrinolyse" (ASTRUP, 1, LASCH, 53),

sowie die dauernde Inaktivierung der anfallenden Gerinnungsprodukte durch das RES gehört.

Den entscheidenden Schritt im Gerinnungsablauf stellt die Prothrombinaktivierung zu Thrombin dar, die nach DAVIE und RATNOFF (18), sowie MacFARLANE (83) entweder als Schlußglied einer Kette verschiedener vorgeschalteter, größtenteils enzymatischer Reaktionen der einzelnen Thrombokinasefaktoren erfolgt (Kaskade) oder aber nach SKEGERS (109) ausschließlich als autokatalytischer Vorgang abläuft, bei dem die beteiligten Enzyme als Derivate des Prothrombins angesehen werden. Je nach der Herkunft einzelner Thrombokinasefaktoren unterscheidet man zwischen Blutthrombokinasen (intrinsic System) und Gewebsthrombokinasen (extrinsic System). Zur Blutthrombokinasenbildung sind die Faktoren V, VIII, IX, X, XI und XII, sowie Thrombozytenfaktor-3, für das extrinsic System die Faktoren V, VII, X und Gewebsthromboplastin erforderlich. Beiden Prinzipien ist die Endstrecke der Gerinnung gemeinsam, in der Thrombin das Fibrinogen durch Abspaltung der Fibrinopeptide A und B in Fibrin-monomer überführt. Dieses polymerisiert unter Anwesenheit von Faktor XIII und Kalziumionen zu einem festen Fibringerinnsel.

Ähnlich aufgebaut ist das System der Fibrinolyse, in dem ein Gewebe- und Blutaktivator zu einer Umwandlung von Plasminogen in Plasmin führt. Dieses löst nicht nur niedergeschlagene Fibringerinnsel auf; es kann auch über eine proteolytische Spaltung der Faktoren V, VIII und Fibrinogen (JUNG und DUCKERT, 40) zu einer Verminderung des hämostatischen Potentials beitragen, sowie über die bei der Fibrinogenolyse entstehenden

Abbauprodukte (Antithrombin VI) die Fibrinpolymerisation hemmen.

Die diesen Ausführungen zugrunde liegenden experimentellen Untersuchungen beziehen sich vorwiegend auf die Endphase der Gerinnselbildung mit besonderer Berücksichtigung des Verhaltens des Faktor XIII-Anteils.

2. Biologie des Faktors XIII:

Seit 1951 (LORAND,69) ist bekannt, daß außer dem Fibrinogen noch ein anderes Plasmaglobulin an der Bildung eines normalen Gerinnsels beteiligt ist. Untersuchungen von BARKAN und GASPAR 1923 (2) über die Reversibilität der Fibringerinnung, von ROBBINS 1944 (101) und LAKI und LORAND 1948 (50) legten die Vermutung nahe, daß neben den bekannten Gerinnungsfaktoren noch eine weitere Plasmakomponente existieren muß, die für die Bildung von in 5 M Harnstoff-Lösung unlöslichem Fibrin verantwortlich war; denn die Gerinnsel, die LAKI und LORAND aus gereinigtem Fibrinogen und Thrombin herstellten, lösten sich in diesem Lösungsmittel.

Dieser Faktor ist nicht dialysierbar, hitzestabil, im Plasma, den Blutplättchen (LÜSCHER, 81, KISSELBACH et al., 42) und nach TYLER und LACK (120) anscheinend auch in Gehirn, Niere, Leber, Lunge, Muskulatur und anderen Geweben vorhanden. Er braucht Kalziumionen sowie Thrombin (BULUK et al., 11) zu seiner Aktivierung und ist durch SH-Gruppen blockierende Reagentien, wie p-Chlormercuribenzoat, hemmbar (LOEWY et al., 64).

Seine Aktivität kann durch Cystein regeneriert bzw. potenziert werden, da es die Dissoziation des aktiven Fibrinstabilisierenden Faktors (FSF) (MG 350 000) in drei inaktive Untereinheiten (MG 110 000) verhindert. Als Globulin hat FSF ähnliche elektrophoretische Eigenschaften wie Fibrinogen, mit dem es offensichtlich einen sehr stabilen FSF-Fibrinogenkomplex bildet (LOEWY et al., 63), der nur durch Hitzedenaturierung (3 Minuten bei 56°C) getrennt werden kann. Dieser FSF-Fibrinogenkomplex könnte der biologischen Stabilisierung des FSF-Moleküls dienen. Faktor XIII allein verliert in vitro seine Aktivität mit einer Halbwertszeit von zwei Monaten (LOEWY et al., 63), obwohl ein hoher Prozentsatz seiner normalen Aktivität danach durch Cystein regenerierbar bleibt. Da die Faktor XIII-Präparationen von LORAND (70) nur geringe spezifische Aktivität aufwiesen, glaubte er, daß die Bildung von unlöslichem Fibrin von einem gewissen FSF-Fibrinogen-Verhältnis abhängig sei, wobei FSF als Cofaktor des Fibrin-monomer wirke. Die Präparationen von LOEWY et al. (64, 65) zeigten jedoch so hohe Aktivität, daß an dem enzymatischen Charakter dieses Faktors kaum zu zweifeln ist. BULUK et al. (12) konnten zeigen, daß bei der Thrombin-Kalzium-Aktivierung von FSF vorübergehend zusätzliche SH-Gruppen an seinem Molekül auftreten, die für die Fibrinstabilisierung entscheidend sind. Diese neu erscheinenden SH-Gruppen sollen, wie auch die durch diese Gruppen dann induzierte Disulfid-Austauschreaktion, die nach BULUK die Grundlage der Fibrinstabilisierung bildet, durch SH-Gruppen blockierende Reagentien gehemmt werden können.

Der Faktor XIII bewirkt, wie schon sein Name aus-

drückt, eine Stabilisierung der Gerinnselstruktur. Werden die Gerinnsel in Gegenwart von Kalzium und Faktor XIII gebildet, so zeigen sie eine viel größere mechanische Festigkeit (FERRY et al., 23), die durch zusätzliche kovalente Bindungen verursacht wird., Sie sind auch gegenüber lytischen Fermenten, wie Plasmin oder Urokinase viel resistenter (LORAND, 78, LAXI, 49). Dabei scheint die hämostatisch wirksame Konzentration dieses Faktors unter 10 % des Normalwertes zu liegen.

Die Bedeutung des Faktors XIII bekam mehr Gewicht, als DUCKERT et al. (21) 1961 bei zwei Kindern einer Familie als Ursache einer hämorrhagischen Diathese einen angeborenen FSP-Mangel erkannten. Mittlerweile sind 24 derartiger Fälle in der Literatur beschrieben worden (24, 28, 38, 79). Das Krankheitsbild beginnt 10-14 Tage nach der Geburt mit einer Nabelvenenblutung. Schon nach kleinen Traumen treten immer wieder großflächige Hämatome auf, mit schlechter Wundheilung und unvollständiger Narbenbildung. Dabei kommt es 24 - 36 Stunden nach anfänglich normaler Hämostase zu schwer stillbaren Blutungen, die aber durch Transfusion kleiner Mengen von Frischblut oder Plasma beherrscht werden können. Außer einem pathologischen Thrombelastogramm mit verminderter maximalen Amplitude infolge einer Abnahme der Gerinnselhaftigkeit zeigten sich, neben der Löslichkeit der Gerinnsel in Harnstofflösung, keine groben Veränderungen der Gerinnungsanalysen. Nie wurden spontane Hämorrhagien bei dieser angeborenen Blutungsneigung beobachtet, intracraniale Blutungen

und Abort nach Plazentarblutung sind beschrieben (FISHER et al., 24). Beck und Mitarbeiter untersuchten den Einfluß von FSF-Mangelplasma auf das Wachstum von Fibroblasten in einem normalen Plasmagerinnsel. Hierbei fanden sie eine stark verminderte Wachstumstendenz, irreguläre Formen und ungenügende Kollagenfibrillenbildung. Damit konnte erstmals gezeigt werden, daß das erbliche Fehlen eines Gerinnungsfaktors mit resultierender hämorrhagischer Diathese in einer Beziehung zur Wundheilung steht. Während Verminderungen der FSF-Aktivität bei einer Reihe von Krankheiten, wie Lebercirrhose, malignen Tumoren, Leukämien gefunden wurden (NUSSBAUM et al., 96, MÜNCH, 92), so konnte kürzlich LEWIS (60) erstmals über einen erworbenen Hemmkörper des Faktors XIII berichten, den er bei einem 79-jährigen Mann mit plötzlich auftretenden Blutungen entdeckte. Nach Mischung des Patienten- mit Normalplasma in unterschiedlichem Verhältnis waren die gebildeten Gerinnsel in 5 M Harnstoff löslich.

Erste tierexperimentelle Untersuchungen über das Verhalten des Faktors XIII nach Inokulation von *Echis colorata* Gift bei Hunden wurden von DJALDETTI et al. (20) berichtet. Sie vermuteten, daß neben einer direkten Inaktivierung von FSF durch das Gift, die in vitro bei Benutzung von gereinigtem FSF nachweisbar war, auch eine Verbrauchsreaktion für das Verschwinden des Faktors XIII verantwortlich sein müsse. Dabei fiel auf, daß nach Thrombin-, wie auch nach Thromboplastin-infusion sowohl Fibrinogen als auch der Faktor XIII innerhalb von 2-3 Stunden völlig verschwinden, daß aber nach Zugabe von

Cystein der FSF im afibrinogenämischen Blut wieder reaktivierbar war. Sie führten die beobachtete Cysteinreaktivierung des FSF im Plasma giftbehandelter Hunde auf eine im Verlaufe des intravasalen Gerinnungsprozesses weniger eingreifende Veränderung am FSF-Molekül zurück. Wurde das Gift den Hunden in subletalen Dosen appliziert, so konnten die Autoren schon nach 5 Minuten einen Verlust der gesamten FSF-Aktivität beobachten, die sich aber innerhalb von 24-48 Stunden normalisierte. Annähernd analog verhielt sich das Plasmafibrinogen. In einem Fall, wo nur die gerinnungsfördernde Fraktion des Giftes injiziert wurde, zeigte sich nach anfänglichem FSF-Aktivitätsverlust nach 15 Minuten bereits wieder eine so hohe FSF-Konzentration, die genügte, um die gebildeten Gerinnsel ausreichend zu stabilisieren.

Diese Beobachtungen zeigen, daß Eingriffe, die am Gerinnungssystem zu tiefgreifenden Veränderungen führen, auch den Faktor XIII nicht unbeeinflusst lassen.

Der molekulare Wirkungsmechanismus des aktiven FSF im Stabilisierungsprozeß des Fibrins war in den vergangenen 10 Jahren Grund heftiger Meinungsverschiedenheiten. Neben der oben beschriebenen Vorstellung von BULUK und LOEWY stehen Hypothesen von CHANDRASEKHAR und LAKI (14, 15), wonach FSF ein kohlenhydratabspaltendes Enzym ist und eine Transamidationsreaktion zwischen der Carboxylgruppe des Asparagins, von dem zunächst der Kohlenhydratrest abgespalten wird, und der Aminogruppe eines anderen Fibrin-monomer, katalysiert. Versuche zur spezifischen Hemmung der Fibrinpolymerisation, die

vor allem von LORAND et al. (71,72,73,76,77,78) und LOEWY et al. (62, 68) durchgeführt worden sind, weisen aber auf einen Transpeptidations- bzw. Transamidationsmechanismus unter Freisetzung von Ammoniak hin. Dabei erfolgt die Gerinnselpolymerisation über die Ausbildung von γ -glutamyl- ϵ -aminolysin-Bindungen (LORAND et al.,77).

3. Biochemische Beeinflußbarkeit der Gerinnselstabilität:

Dieser enzymatische Mechanismus der Transamidation schließt die Existenz von zwei möglichen Hemmtypen der Fibrinpolymerisation ein (LORAND et al., 73). Die eine Gruppe umfaßt Verbindungen, welche die Aminogruppe des angreifenden Donor-Fibrinmoleküls imitieren und kompetitiv hemmen, wie Glycinäthylester (GEE) (LORAND, 71, 73, LOEWY, 68), Glycylglycin (LOEWY, 62), Glycinmethylester (LORAND, 73,76,78, GORMSEN, 27), Glycinamid (LORAND, 72, 76, GORMSEN, 27), Aminoacetonitril (LORAND, 78) und andere. Die zweite Möglichkeit der Hemmung der Fibrinpolymerisation ist die Nachahmung der Akzeptor-Carbonylgruppe des angreifenden Fibrinmonomer-Moleküls. Ein klassischer Inhibitor dieses Typs ist L-carbobenzoxy-L-asparaginamid (LORAND, 73). Beide Hemmer müssen also eine ganz spezifische Struktur aufweisen, um ihre Wirkung entfalten zu können. Sie hemmen unter FSF-Wirkung den Vernetzungsprozeß des unlöslichen Fibrins dadurch, daß sie in das Fibrin inkorporiert werden und dabei

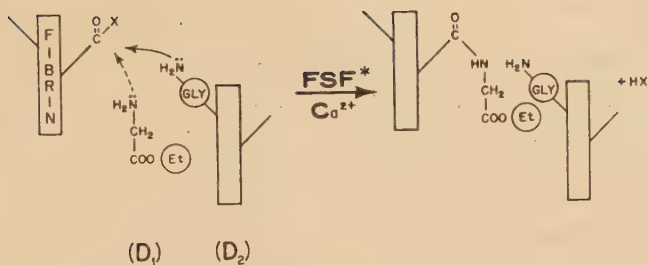


Abb. 1: Darstellung der vermutlichen Wirkungsweise von Hemmern des Amintyps am Beispiel des Glycinäthylesters (D₁). Kompetitive Hemmung zwischen den beiden potentiellen Amindonatoren D₁ und D₂. (Aus LORAND, 71)

die Polymerisationskette unterbrechen. Bei Verwendung von ¹⁴C-Glycyl-glycin konnten LOEWY et al. (62) zeigen, daß 4-5 Moleküle ¹⁴C-Glycyl-glycin pro Molekül Fibrin (MG 320 000) eingebaut wurden. Später konnten LORAND et al. (73) die Inkorporation von ¹⁴C-Glycinäthylester (GEE) in Fibrin-gerinnsel nachweisen. Wurde statt Fibrin Glukagon als Modell-substrat verwendet (LOEWY et al., 68), so bewirkte der FSF eine Einlagerung von ¹⁴C-GEE in das Glukagonmolekül durch Transamidasereaktion, die die γ -Carboxylgruppe von Glutamin

umfaßte. Zu einem geringen Anteil hatte auch der Faktor XIII¹⁴C-GEE inkorporiert.

Es wurde früher erwähnt, daß der Faktor XIII durch Thrombin in Gegenwart von Kalziumionen aktiviert wird. Im Zusammenhang mit dieser Tatsache stellt sich die Frage, ob im Rahmen intravaskulärer Gerinnungsprozesse, die durch das kontinuierliche Auftreten von Thrombinspuren perpetuiert werden, eine Aktivierung des Faktors XIII erfolgt und dieser somit ebenfalls, wie andere plasmatische Gerinnungsproteine, verbraucht wird. Für derlei Untersuchungen erscheint das Modell des SANARELLI-SHWARTZMAN - Phänomens besonders gut geeignet zu sein.

4. Das SANARELLI-SHWARTZMAN-Phänomen als typisches Beispiel einer Verbrauchskoagulopathie.

Das klassische generalisierte SANARELLI-SHWARTZMAN-Phänomen (SSP) wird am Kaninchen durch zweimalige, im Abstand von 24 Stunden aufeinanderfolgende intravenöse Injektionen von Bakterienendotoxin, ausgelöst. Als Endotoxin werden Lipopolysaccharide aus Zellwänden gramnegativer Bakterien, wie E. coli, Salmonellen oder Shigellen, benutzt. Je nach der Applikationsart der ersten sogenannten präparativen Injektion unterscheiden wir eine lokale von einer generalisierten Schwartzman-Reaktion. Im Jahre 1927 fand SHWARTZMAN (112) nach intrakutaner Applikation von Typhusvaccinen beim Kaninchen und in 24-stündigem Abstand folgender intravenösen Gabe des gleichen Bakterienproduktes an der Injektionsstelle Petechien und eine

schwarze hämorrhagische Nekrose. Es handelt sich bei diesem l o k a l e n SHWARTZMAN-Phänomen nicht um eine spezifische Antigen-Antikörper-Reaktion nach Sensibilisierung durch die erste Bakteriengabe, da für die auslösende zweite Injektion auch Endotoxin von einem ganz verschiedenen Bakterium, ja sogar Kaolin, Glykogen oder Stärke verwendet werden kann (THOMAS et al., 117). Im Unterschied dazu wird das g e n e r a l i s i e r t e SHWARTZMAN-Phänomen (107) durch zweimalige intravenöse Injektionen von Endotoxin gramnegativer Bakterien ausgelöst. Das Stadium der Sensibilisierung durch die erste Injektion ist optimal nach 24 Stunden, zum Zeitpunkt der auslösenden Injektion.

Die Störungen, die durch die Applikation des Endotoxins im Organismus hervorgerufen werden, sind mannigfacher Art. Über einen Kreislaufzusammenbruch mit Kreislaufzentralisation kommt es zu einer Mikrozirkulationsstörung, deren Folge Stase, Hämokonzentration, Erythrocytensludging und Plättchenaggregation sind. Die Folge der dann eintretenden Hypoxidose ist eine zelluläre Stoffwechselentgleisung, die sich vor allem an den besonders sauerstoffbedürftigen Zellen des Zentralnervensystems, wie auch der Nierentubuli auswirken muß. Nähert sich, wie aus den Untersuchungen von NEUHOF (93) hervorgeht, die Sauerstoffschuld des Organismus 140 ml/kg Körpergewicht, so führen Anoxie und Azidose des Gewebes zum Tod im irreversiblen Kreislaufzusammenbruch.

Daneben führt das Endotoxin zu einer direkten Schädigung der Thromboocyten (DAVIS et al., 19, HOROWITZ et al., 35). LASCH (55), RODRIGUEZ-ERDMANN et al., 105 und WEBER et al.,

(123) konnten bei der Untersuchung der Plättchen zeigen, daß ihnen eine wesentliche Funktion in der initialen Phase des generalisierten Schwartzman-Phänomens zukommt. Die Blutplättchen sind nach der ersten, wie auch der zweiten Injektion nicht nur quantitativ vermindert (McKAY und SHAPIRO, 84), sie zeigen auch eine starke Beeinträchtigung ihrer Partialfunktionen. Während die Thrombocytenfaktoren 2 und 4 keine größeren Veränderungen aufweisen, so beobachteten doch LASCH et al. (55) einen signifikanten Abfall von Plättchenfaktor-3, der weit stärker war als es die zahlenmäßige Verminderung der Thromboocyten in dieser Phase hätte erwarten lassen. Auch ist der Plättchenfaktor-1, der als ein mittels eines Stabilisators an der Thrombocytenoberfläche adsorbierter Faktor V aufgefaßt wird, offenbar in Abhängigkeit vom Plasmaspiegel des Faktors V, vermindert. Der histologische Nachweis von Thrombocytenaggregaten in der Gefäßperipherie von Lunge und Milz erklärt nicht allein den starken Abfall der Plättchen. Wesentlich bedeutsamer für den Thrombocytensturz scheint die enge Wechselwirkung zu sein, die zwischen den Blutplättchen und den plasmatischen Gerinnungsfaktoren besteht. Nachdem LÜSCHER (80, 82) zeigen konnte, daß für den Untergang der Thromboocyten in der "viskösen Metamorphose" Thrombin eine entscheidende Rolle spielt, zumal nach BOUNAMEAUX (8) ein großer Teil der Gerinnungsfaktoren an ihrer Oberfläche adsorbiert ist, scheint der Plättchenabfall aufgrund des ubiquitären intravasalen Auftretens von Thrombin erklärbar. Daß dies aber nur

einer der beteiligten Faktoren sein kann, zeigen die Untersuchungen von DAVIS (19), der nach Gabe des Antithrombins Heparin zwar die Fibrinogen-Fibrinumwandlung verhindern, den Plättchenabfall aber nicht beeinflussen konnte. In nicht unerheblichem Maße treten dabei auch Veränderungen der freien Thrombocytennukleotide auf (WEBER et al., 123), mit Abnahme der stationären Konzentrationen von ATP, ADP, GTP, UTP und anderer Nukleotide, die für die während des generalisierten SSP beobachtete verminderte Retraktionsfähigkeit des Blutes verantwortlich sind.

Auch die Gefäßwände scheinen einen bedeutenden Teilfaktor in der Pathogenese des SSP darzustellen. MÜLLER-BERGHAUS (89) konnte zeigen, daß es im Verlauf des SSP zu Veränderungen der Gefäßwände kommt. Dabei wäre eine Akzeleration der Gerinnung über eine veränderte Benetzbarkeit der Gefäß - oberfläche, evtl. via Hagemannfaktor, möglich. Vielleicht liegen diesen Veränderungen auch Störungen im Stoffwechsel der Gefäßwände zugrunde, die über die Bildung thromboplastischer Substanzen für die größere Thrombinentstehung in der Frühphase des SSP verantwortlich sind. Er stützt seine Annahme auf die Beobachtungen von MOORE et al. (87), die bei der Untersuchung von Patienten mit thrombotisch-thrombocytopenischer Purpura, dem Syndrom einer disseminierten intravaskulären Gerinnung, eine Anhäufung von sauren Mucopolysacchariden in den Gefäßwänden fanden. Eine solche endotoxinbedingte Endothelschädigung mit Freisetzung von thrombo -

plastischem Material könnte als Auslösungsmechanismus der im Verlaufe des SSP eintretenden Verbrauchsreaktion diskutiert werden.

Aber auch eine direkte Aktivierung von Faktor XII , die (31) als Initialschritt der Aktivierung des intrinsio Gerinnungssystems angesehen wird, kann nach RODRIGUEZ-ERDMANN (104) durch Endotoxin ausgelöst werden. Obwohl noch keine Einigkeit über den genauen Ablauf der Vorphase der Gerinnung herrscht, so nimmt er doch an, daß der aktivierte Hagemannfaktor als trigger in Gegenwart der anderen Gerinnungsfaktoren wirkt.

So wird verständlich, daß die Auslösung einer komplexen Gerinnungsstörung, an der gleichermaßen plasmatische und zelluläre Gerinnungsfaktoren, wie auch das gesamte Gefäßsystem mitsamt seiner nervösen Regulation beteiligt sind, den entscheidenden Faktor in der Pathogenese des SSP darstellt. An einer derartigen akuten Störung des dynamischen Gleichgewichtes im Gerinnungssystem, dessen Bilanz und hämostatisches Potential durch die Aktivität der Bildungszentren, gerinnungsfördernde und -hemmende Faktoren, ihren Metabolismus im peripheren Blut, sowie ungestörte Hämodynamik normalerweise aufrechterhalten wird, ist auch das Retikuloendotheliale System über eine Beeinträchtigung seiner Klärfunktion für Abbauprodukte des Gerinnungssystems beteiligt.

Erst in den letzten Jahren ist erkannt worden, welche wesentliche Bedeutung dem RES im Rahmen der intravasculären Gerinnung zukommt. SPAET et al. (113) zeigten an Versuchen mit Ratten, daß Blutthromboplastin selektiv von den

Zellen des RES, die vorwiegend an den Ufern der weiten Sinusoide von Leber und Milz gelegen sind, entfernt wird. Hemmt man aber experimentell die Phagocytosefähigkeit des RES, so zirkuliert dieser Aktivator der Gerinnung länger im Blut und führt hier zu einer massiven Defibrinierung, als dessen anatomisches Substrat fibrinreiche Thromben in der Gefäßperipherie auftreten. Später beschrieb LEE (58) die Phagocytosefähigkeit des RES für intravasal gebildetes Fibrin. Er konnte zeigen, daß das RES über die Entfernung kleiner Fibrinaggregate funktioniert, die im Ablauf einer geringgradigen diffusen intravaskulären Gerinnung entstehen, und damit einer massiven weitverbreiteten intravasalen Fibrinablagerung vorbeugt. Nach LEE ist die Hemmung des Fibrinklärungsmechanismus dafür verantwortlich, daß zwei Endotoxininjektionen im Abstand von 24 Stunden gegeben werden müssen, um bilaterale Nierenrindennekrosen im Verlaufe des SSP hervorzurufen. BENACERRAF (4) konnte zeigen, daß Endotoxin selbst schon die Phagocytosefähigkeit des RES vermindert. Nach der ersten Endotoxinapplikation kann das RES noch genügend in der Zirkulation anfallendes Fibrin aufnehmen. Erst nach der "blockierenden" zweiten Injektion ist die Klärfunktion so weit eingeschränkt, daß sich Fibrin auch in den renalen glomerulären Kapillaren anhäuft und die für das generalisierte SSP pathognomonischen Nierenrindennekrosen produziert (THOMAS et al.,9).

Einen nicht minder entscheidenden Faktor, der die Clearance-Kapazität des RES im Laufe der diffusen

intravaskulären Gerinnung limitiert, sind Veränderungen im Lipidstoffwechsel, auf deren Bedeutung in der Pathogenese des SSP besonders MÜLLER-BERGHAUS (89) und HUTH und SCHOENBORN (37) hingewiesen haben. Sie beobachteten während des generalisierten SSP eine Erhöhung der Blutlipide, insbesondere des Cholesterins, der Beta-Lipoproteide und des Cholesterin/Phospholipid-Quotienten, deren kontinuierlicher Anstieg mit der ersten Injektion beginnt und auch nach der zweiten Endotoxingabe anhält. Dies führt neben einer Akzeleration des Gerinnungssystems, wie sie auch nach alimentärer oder intravenöser Fettzufuhr von FULLERTON (25) und einer Reihe anderer Autoren beobachtet wurde, zu einer weitgehenden Blockade der Phagocytosefunktion des RES. Gelingt es, den Plasmalipidspiegel zur Zeit der auslösenden Endotoxininjektion durch Zufuhr essentieller Phospholipide (MÜLLER-BERGHAUS et al., 90) zu normalisieren, so wird die zweite Injektion wirkungslos, und die Tiere überleben das sonst tödliche Experiment. Metabolite des Fettstoffwechsels, sowie Substrate des Gerinnungssystems scheinen quantitativ um ihre Klärung durch das RES zu kompetitieren, so daß den Lipiden ein entscheidender Anteil in der Pathogenese des SSP zukommt. Dies zeigen auch die Versuche von HUTH und SCHOENBORN (37), die durch Kombination von Fettinfusion und einer Endotoxingabe ein dem generalisierten SSP äquivalentes Erscheinungsbild am Kaninchen mit schwerer Verbrauchskoagulopathie, hämorrhagischer Diathese und Tod im Kreislaufversagen erzeugen konnten.

BEESON (3) beobachtete 1947, daß die Blockade des RES durch Thorotrast oder Trypanblau zu einer Verstärkung des lokalen Shwartzman-Phänomens führte, was THOMAS (115) für das generalisierte SSP bestätigte. Er zeigte nämlich, daß diese Substanzen das Kaninchen für das SSP sensibilisieren konnten, so daß nur eine Endotoxininjektion genügte, um das Vollbild dieses klassischen Tierexperimentes hervorzubringen. Auch Cortison, Bakterienendotoxin, Tusche und andere Substanzen, wie hochmolekulare Polymere (Liquid) und Carragenin, vermögen die Klärfunktion des RES weitgehend zu hemmen (THOMAS et al., 116, BENACERRAF et al., 4, HUTH, BLUMENTHAL et al., 36). Zwar besteht diese Blockade nur partiell und auch nur für eine bestimmte Zeit, während der die Entfernung von Fibrinmakromolekülen aus dem Blut vermindert ist. Sie genügt aber doch, um deren intravaskuläre wie intramurale Ablagerung zu ermöglichen. Zusammenfassend kann man sagen, daß durch die bei der ersten Injektion eintretenden Störungen im Gerinnungssystem und Fettstoffwechsel, sowie aufgrund einer primären Schädigung des RES durch das Endotoxin, dessen Blockade induziert wird, die verhindert, daß die bei der zweiten Injektion abermals freigesetzten Substanzen quantitativ aus dem zirkulierenden Blut eliminiert werden. Die resultierende starke Erhöhung des Gerinnungspotentials, an der mit LASCH auch die Mikrozirkulationsstörung mit ihrem verminderten Abtransport dieser Substanzen zu den klärenden Zentren in nicht unerheblichem Maße beteiligt ist, führt zu ausgedehnter intravaskulärer Gerinnung, deren morphologisches Äquivalent

Mikrothromben in den Blutgefäßen der verschiedensten Organe sind (BOHLE et al., 7). Wenige Stunden nach der zweiten Injektion kommt es parallel zu dem starken Abfall des Fibrinogens zu einer Ablagerung von eosinophilem Material in den glomerulären Kapillarschlingen (BRUNSON et al., 10, THOMAS et al., 118), das nach den elektronenmikroskopischen Untersuchungen von BOHLE (7) Fasern mit der typischen Querstreifung des Fibrins enthält und als Ursache der doppelseitigen Nierenrindennekrosen angesehen wird. Diese Organmanifestation ist neben der Mikrozirkulationsstörung und der progredienten Sauerstoffschuld des Organismus (NEUHOF, 93) nach LASCH (52) verantwortlich für das Einsetzen der irreversiblen Phase des Endotoxinschocks.

Eine dominierende Rolle in der kausalen Pathogenese des SSP spielen Veränderungen im Gerinnungssystem, die durch die Arbeiten von THOMAS et al. (117), McKAY und SHAPIRO (84, 85), sowie die Arbeitsgruppe um LASCH (43) zu einem besseren Verständnis des Schocks geführt haben. Während der initialen Phase der Hyperkoagulabilität, die bis zu 30-60 Minuten nach der ersten Endotoxininjektion beobachtet wird, können Aktivitätssteigerungen der Faktoren Prothrombin, V und VIII gemessen werden, die sicher zum Teil mit durch die eintretenden qualitativen wie quantitativen Veränderungen der Thrombozyten über die Freisetzung von Plättchenfaktor-3 hervorgerufen werden (LASCH et al., 55, Weber et al., 123, RODRIGUEZ-ERDMANN et al., 105).

Danach tritt eine extreme Hypokoagulabilität auf, mit Fibrinogenabfall (McKAY et al.,84) und Aktivitätsverlust der Plasmafaktoren Prothrombin, Faktor V, VIII, aber auch der Faktoren VII und X (HOIGNE, 34, McKAY et al.,84, KLEINMAIER et al.,43). Die noch frei im Blut zirkulierenden Plättchen zeigen die schon beschriebenen Veränderungen ihrer Partialfunktionen. Aber auch die Leukocyten werden nach jeder Endotoxininjektion stark vermindert.

Als Mittelpunkt des Auslösungsmechanismus der Verbrauchskoagulopathie muß mit RODRIGUEZ-ERDMANN und LASCH (105) die überschießende intravasale Bildung von Thrombin verstanden werden, das nicht nur die Umwandlung von Fibrinogen in Fibrin ermöglicht, sondern auch in den Aktivierungs- bzw. Inaktivierungsmechanismus einer Reihe anderer Gerinnungsfaktoren eingreift. Nach Untersuchungen von RAPAPORT und SCHIFFMANN (100) ist das Aktivitätsverhalten des Faktors VIII abhängig von der Anwesenheit von Thrombin, das je nach Konzentration eine Inaktivierung von Faktor VIII herbeiführt, so daß der Abfall der Faktor VIII-Aktivität im Verlaufe des SSP durch die vermehrte Thrombinbildung erklärbar wäre. Nach WARE und SEEGER (110,122) scheint aber auch für die Faktor V-Inaktivierung Thrombin verantwortlich zu sein, wie auch für den gesteigerten Untergang der Thrombocyten in der "viskösen Metamorphose" (LÜSCHER,80,82). Seit den Untersuchungen von BULUK et al.(11) über den Aktivierungsmechanismus des FSF wissen wir, daß auch hier neben Kalziumionen Thrombin beteiligt ist. Als Folge des akuten Zusammenbruchs des hämostatischen Potentials in der Verbrauchskoagulopathie zeigt sich

klinisch eine hämorrhagische Diathese.

Untersuchungen von GOOD und THOMAS (26), sowie CLUFF et al. (16) haben gezeigt, daß das generalisierte SSP durch Gabe von Heparin zum Zeitpunkt der zweiten Injektion gehemmt werden kann. Dies bestätigte später CONDIE et al. (17) und KLIMAN et al. (44) auch für die experimentell aktivierte Fibrinolyse mit hohen Dosen von Streptokinase. Aber auch Warfarin vermag die für das SSP pathognomonische Nierenrindennekrose über eine Verminderung des Plasmaprothrombins zu verhindern (SHAPIRO et al., 111). Diese Substanzen entfalten ihre antikoagulatorische Wirkung an ganz verschiedener Stelle im Gerinnungssystem. Das Cumarinderivat Warfarin, das als Antagonist des Vitamins K direkt in die in der Leber stattfindende Synthese der Faktoren des Prothrombinkomplexes (Prothrombin, Faktor VII, IX, X) eingreift, führt über die Abnahme des Prothrombins im Blut zu einer quantitativ verminderten Verbrauchsreaktion. Dagegen wirkt das Heparin als Antithrombin und Antithromboplastin. Andererseits gelingt es aber auch, die aufgrund der komplexen Gerinnungsstörung im Verlaufe des SSP ubiquitär abgelagerten Mikrothromben durch Aktivierung der Fibrinolyse zu beseitigen. Dazu ist die sekundäre kompensatorische Fibrinolyse, zusammen mit der RES-Clearance, deren Stärke in der Beseitigung geringer, intravasal gebildeter Thromboplastin- und Fibrinmengen, sowie der Lyse von lokal niedergeschlagenem oder zirkulierendem thrombotischem Material beruht, nicht mehr in der Lage. Die Versuche von RODRIGUEZ-ERDMANN (103) über die experimentell induzierte

Fibrinolyse beim SSP des Kaninchens zeigen, daß Streptokinase 4 Stunden nach der zweiten Injektion zwar die Ausbildung der Nierenrindennekrose verhindert, daß aber dadurch nicht die ubiquitäre intravasale Aktivierung des Gerinnungssystems gehemmt werden kann. Plättchen, Prothrombin und Faktor V fallen auch nach Streptokinasegabe weiter ab. Die histologische Untersuchung der Nieren zeigte nur geringe Fibrinablagerungen.

Es ist bekannt, daß Plasmin selbst die Faktoren V, VIII und Fibrinogen proteolytisch spalten kann (JUNG und DUCKERT, 40), so daß damit ein weiterer Abfall des hämostatischen Potentials bei der Verbrauchskoagulopathie mit kompensatorischer Fibrinolyse eintreten muß. Diese endogene Aktivierung der Fibrinolyse beim Endotoxinschock ist aber nach McKAY und SHAPIRO (84) beim Kaninchen nicht nachzuweisen, sonst wäre die Ausbildung der Nierenrindennekrose nicht verständlich. Aber auch Hemmstoffe des Gerinnselaufbaus, im Sinne der "fibrinogen break-down substances" (Antithrombin VI nach NIEWIAROWSKI und KOWALSKI, 94, 95) können nach den Befunden von MÜLLER-BERGHAUS et al. (91) keine entscheidende Rolle beim SSP spielen, da sie bei der Mischung des Blutes von SSP- und Normaltieren keine Hemmeffekte beobachteten. Auch fanden McKAY, KLIMAN und ALEXANDER keine signifikante Änderung des Fibrinogenspiegels bei Streptokinase-behandelten Tieren.

Die endogene Fibrinolyse oder ihre exogene Aktivierung durch Streptokinase wäre beim Vorliegen einer generalisierten Mikrothrombosierung wirkungsvoller, wenn während der

disseminierten intravaskulären Gerinnung ein Polymerisationshemmer vom Typ des GEE zugegen wäre. Entsprechende in vitro Versuche wurden von der Arbeitsgruppe um LORAND durchgeführt.

5. Beeinflussung des intravaskulären Gerinnungsprozesses über einen hemmenden Mechanismus, der in der Endphase der Gerinnung eingreift:

Ein analoger Wirkungsmechanismus ist von einer Reihe Glycinderivate bekannt, von denen LORAND und Mitarbeiter besonders Glycinamid und Glycinmethylester untersuchten. Ihre Anwendung in vitro zeigte, daß mit diesen Substanzen eine spezifische strukturelle Beeinflussung der Thrombusfestigkeit erreicht werden kann und damit eine einzigartige Konzeption zur Entwicklung neuer Blutgerinnungshemmer gegeben ist. LORAND et al. (72) gelang es zu zeigen, daß Blutgerinnsel, die in Gegenwart von Glycinamid gebildet wurden oder künstliche Thromben unter Einwirkung von Glycinmethylester oder Aminoacetonitril (LORAND et al., 78), sich nach Aktivierung des fibrinolytischen Enzymsystems durch Urokinase viel schneller lösten als unbehandelte Gerinnsel. Damit existiert ein spezifisches Substrat, mit dem die chemische Struktur von Fibrinthromben verändert werden kann, ohne die Gerinnungszeit des Blutes selbst zu beeinflussen. Denn die Hemmer der Fibrinpolymerisation interferieren ja nicht mit der Bildung von narnstofflöslichem Fibrin. Sie lockern nur, je nach ihrer Konzentration, die Struktur des unlöslichen Fibrins mehr oder weniger auf, ohne aber dadurch die normale Hämostase zu

beeinträchtigen. Genügend hohe Dosen von GEE verringern die Anzahl der kovalenten Bindungen so drastisch, daß das Gerinnsel in 5 M Harnstoff löslich wird.

6. Fragestellung:

Im Verlaufe der beim SSP beobachteten disseminierten intravaskulären Gerinnung kommt es zu ubiquitärem Auftreten fibrinreicher Präzipitate in der Gefäßperipherie. Die Fibrinthromben zeigen bei elektronenmikroskopischer Untersuchung die für Fibrin typische Querstreifung von $230 \overset{0}{\text{Å}}$. Ihr Nachweis, wie auch die Unlöslichkeit der gebildeten Gerinnsel in 30% Harnstofflösung, sind eine typische Eigenschaft von Fibrinpolymer, das in Gegenwart von Kalziumionen und Faktor XIII gebildet wurde. Für die Aktivierung dieses plasmatischen Gerinnungsfaktors sind ebenfalls Spuren von intravasal gebildetem Thrombin nötig. Deshalb interessierte uns die Frage, ob gesetzmäßige Veränderungen des FSF bei der experimentellen Verbrauchs-koagulopathie, am typischen Beispiel des SSP, auftreten und ob durch eine Hemmung der Endphase der Gerinnung mit Polymerisationsinhibitoren die Stabilität der intravasal auftretenden Thromben beeinflußt werden kann.

B. Methodik:

Die tierexperimentellen Untersuchungen über das Verhalten des Fibrinstabilisierenden Faktors wurden an insgesamt 64 etwa 2,0 - 3,7 kg schweren Kaninchen beiderlei Geschlechts durchgeführt, bei denen nach der Methode von RODRIGUEZ-ERDMANN (102) ein Ohrkatheter 18 - 24 Stunden vor Versuchsbeginn gelegt worden war. Wir beschränkten uns neben der laufenden Ermittlung der FSP-Aktivität im Plasma auf die Bestimmung der globalen Gerinnungszeit am Thrombelastogramm, des Fibrinogens, sowie des Hämatokrits. Es wurde auf eine umfassende Gerinnungsanalyse verzichtet, da die Veränderungen der plasmatischen Gerinnungsfaktoren, insbesondere im Verlaufe des SSP, hinreichend untersucht worden sind.

1. Blutentnahme:

Für die jeweiligen Gerinnungsanalysen wurden 5 ml Natrium-Oxalatblut (1 Teil Natriumoxalat 1.34 g% + 9 Teile Blut) benötigt. Um eine zeitgerechte und unter konstanten Bedingungen ablaufende Blutentnahme zu gewährleisten, wurde ein Ohrkatheter nach der Methode von RODRIGUEZ - ERDMANN (102) von einer mittleren Ohrvene aus gelegt. Nach lokaler Enthaarung wurde in Lokalanästhesie mit 1% Novokainlösung durch einen Längsschnitt die mittlere Ohrvene aufgesucht, mit stumpfer Pinzette die Venenwand aus der bindegewebigen Hülle freiprepariert und das Gefäß proximal abgeklemmt. Ein Zentimeter
distal

im gestauten Bezirk wurde eine Ligatur mit einem Zwirnsfaden gelegt. Ohne Blutverlust konnte nun durch einen Einschnitt in die Gefäßwand zwischen den beiden Ligaturen ein 0,5 mm weiter, mit 0,9% NaCl-Lösung gefüllter angespitzter Polyvinyl-Katheter nach Entfernung der proximalen Klemme bis ins rechte Herz oder die Hohlvenen vorgeschoben werden. Der Katheter mußte im Schnitt 18-20 Zentimeter tief eingeführt werden, um optimale Blutentnahmebedingungen zu erhalten. Nach Spülung des Katheters mit physiologischer Kochsalzlösung wurde er distal abgebunden und aufgerollt mit Heftpflaster am Ohr fixiert. Der Katheter wurde 18-24 Stunden vor Versuchsbeginn gelegt. Das Blut entnehmen wir, nach vorheriger Spülung des Katheters mit physiologischer Kochsalzlösung, direkt in 5 ml silikonisierte Zentrifugengläser, in denen mittels einer Wasserstrahlpumpe ein Unterdruck hergestellt worden war. Mit dieser Methode gelang es, Blut ohne Einwirkung von Gewebsthrombokinase auch in größeren Mengen zu erhalten. Einer Hypovolämie wurde durch Gabe entsprechender Volumina physiologischer Kochsalzlösung vorgebeugt.

2. Versuchsanordnung:

1. Gruppe (15 Tiere):

Zur Untersuchung des Verhaltens des Fibrinstabilisierenden Faktors (FSF) bei der experimentellen Verbrauchskoagulopathie am Kaninchen wurden insgesamt 26 etwa 2,2 - 3,5 kg schwere Tiere beiderlei Geschlechts untersucht. Als Endo-

toxin dienten Lipopolysaccharide von *Escherichia coli* (ETU₂₅), die vor dem Versuch in steriler physiologischer Kochsalzlösung in einer Konzentration von 50 und 100 Gamma Endotoxin/ml aufgelöst wurden. Das gleiche Endotoxin wurde sowohl für die erste sogenannte präparative, als auch für die zweite sogenannte auslösende Injektion, 24 Stunden nach der ersten Applikation, verwendet.

Bei diesen Tieren wurde in klassischer Weise durch zweimalige Endotoxininjektion im Abstand von 24 Stunden ein Sanarelli-Schwartzman-Phänomen ausgelöst, wobei die erste Endotoxindosis zwischen 20 und 50 Gamma ETU₂₅/kg Körpergewicht, die zweite Dosis zwischen 50 und 100 Gamma ETU₂₅/kg variiert wurde. Vor der Applikation der präparativen Dosis entnahmen wir 5 ml Natriumoxalatblut als Nullwert, nach 1, 6, 24, 25, 30, 48 und 72 Stunden die gleiche Blutmenge, sofern die Tiere zu diesem Zeitpunkt noch lebten. Die zweite auslösende Endotoxininjektion wurde, wie auch die erste, durch den Polyvinylkatheter injiziert. Überlebten die Tiere 72 Stunden, so wurden sie mit 1-2 Ampullen Pernoocton i.v. getötet, wie die anderen Tiere sofort sezziert und ihre Organe in 10% Formalinlösung aufbewahrt. Sofort nach der Abnahme des Blutes wurde ein Thrombelastogramm nach der Methode von HARTERT (32) geschrieben, der Hämatokrit bestimmt, das restliche Oxalatblut 15 Minuten bei 3000 U/Min. zentrifugiert und das Plasma in der Tiefkühltruhe aufbewahrt. Nach Beendigung eines jeden Versuches wurde dann das Plasmafibrinogen nach RATNOFF und MENZIE (99), sowie die FSP-Aktivität nach HEENE (33) bestimmt.

2. Gruppe (4 Tiere):

Veränderungen der Aktivität des Fibrinstabilisierenden Faktors während der Heparinisierung mit Endotoxin behandelter Kaninchen verfolgten wir an 4 Tieren (2,0 - 2,7 kg), die, wie sämtliche untersuchten Tiere, ausschließlich mit Grünfutter ernährt wurden und denen wir 12 Stunden vor Versuchsbeginn einen Ohrkatheter nach der Methode RODRIGUEZ-ERDMANN legten.

Bei den Tieren dieser Gruppe wurde durch zweimalige Endotoxininjektionen, im Abstand von 24 Stunden, ein SSP ausgelöst, wobei die präparative Injektion 15 Gamma ETU₂₉₋₃₀/kg, die auslösende Injektion 40 Gamma ETU₂₉₋₃₀/kg Körpergewicht betrug. Zehn Minuten vor der ersten Endotoxininjektion wurde die 1. Heparin-gabe in einer Dosis von 5000 Einheiten/kg durch den Polyvinylkatheter appliziert und dann alle 6 Stunden, also 6, 12 und 18 Stunden nach der ersten Endotoxingabe, in der gleichen Dosis wiederholt. Zehn Minuten vor der auslösenden Endotoxin-gabe erfolgte die 5. Heparin-gabe in der gleichen Dosis. Die insgesamt 6 Heparin-gaben à 5000 Einheiten/kg wurden alle 6 Stunden appliziert, wobei das jeweils injizierte Volumen durch Verdünnung in physiologischer Kochsalzlösung 5 ml betrug. Vor und nach der ersten Heparindosis entnahmen wir je 3,5 ml Natriumoxalatblut als Nullwert und 1 bzw. 6 Stunden nach der anschließenden 1. Endotoxingabe die gleiche Blutmenge. Vor Applikation der 5. Heparindosis (nach 24 Stunden) und 10 Minuten danach, wie auch 1,6, sowie 24 Stunden nach der folgenden auslösenden Endotoxingabe, entnahmen wir entsprechende Blutmengen. Der Hämatokrit und die Thrombozyten nach FEISSLY und LÜDIN wurden sofort nach Blutentnahme bestimmt. Das Plasma-

fibrinogen ermittelten wir nach RATNOFF und MENZIE (99), die FSF-Aktivität nach HEENE (33).

Das Heparin wurde von der Firma Vitrum, Stockholm (Schweden), bezogen und in einer Konzentration von 5000 IE/ml angewandt.

Zur Untersuchung des Einflusses von Glycinäthylesterhydrochlorid (GEE) auf das Gerinnungssystem in vivo wurden insgesamt 22, etwa 2,3 - 3,8 kg schwere Kaninchen beiderlei Geschlechts, verschiedene Kombinationen von GEE und Endotoxin infundiert.

3. Gruppe (6 Tiere):

Bei den Tieren dieser Gruppe wurde die Wirkung einer einmaligen GEE-Infusion auf das Gerinnungssystem in vivo studiert. Dem Tier K 31 infundierten wir über eine Stunde die Menge GEE, die bei in vitro-Studien die Gerinnung am Thrombelastographen vollständig hemmte. Der Mehrzahl der Tiere wurde, infolge besserer Verträglichkeit, nur die Hälfte der so ermittelten GEE-Menge appliziert und das Thrombelastogramm, Plasmafibrinogen, FSF-Aktivität, Hämatokrit und Thrombocyten nach 6, 24, 48, 72, 96 und 120 Stunden kontrolliert. Den Nullwert bestimmten wir unmittelbar vor Beginn der einstündigen GEE-Infusion.

Bei dem oben genannten Tier (K 31) wurde 46 mg GEE pro ml Blut infundiert, wobei 70 ml Blut pro kg Körpergewicht zugrunde gelegt wurde. Die Gesamtdosis betrug so 9 g GEE/30 ml

NaCl-Lösung. Bei den anderen Tieren wurden zwischen 3,2 und 4 g GEE, gelöst in 30 ml physiologischer Kochsalzlösung, appliziert, was einer Endkonzentration von 20 mg GEE/ml Blut entspricht. Soweit die Tiere 120 Stunden überlebten, wurden sie danach mit Pernocton getötet und sofort seziert.

4. Gruppe:

Bei diesen Tieren studierten wir den Einfluß einer kombinierten intravenösen Verabfolgung von Glycinäthylester (GEE) und Endotoxin, die in 24-stündigem Abstand injiziert wurden, auf die Blutgerinnung des Kaninchens.

- a) (5 Tiere) Bei diesen Tieren wurde die erste, sog. präparative Endotoxininjektion mit Dosen zwischen 10 und 30 Gamma ETU₂₉₋₃₀/kg Körpergewicht durchgeführt und nach 24 Stunden, anstelle der zweiten auslösenden Injektion, die Menge GEE in 30 ml NaCl-Lösung über eine Stunde infundiert, die im Blut eine Konzentration von 10 bzw. 20 mg GEE/ml erzeugt. In einem Falle (K 46) wurde mit 20 und 40 Gamma Endotoxin/kg Körpergewicht als 1. und 2. Injektion ein klassisches SSP ausgelöst, zusätzlich aber eine Stunde vor der zweiten Injektion 2 g GEE/15 ml NaCl-Lösung infundiert.
- b) (5 Tiere) Den Tieren dieser Gruppe wurde nach Abnahme des Nullwertes zwischen 4,2 - 5 g GEE/30 ml NaCl über eine Stunde infundiert, je nach der Größe des Kaninchens, so daß im Blut eine GEE-Konzentration von ca. 20 mg GEE/ml bestand. In Umkehrung der Versuchsanordnung der Gruppe 4 a

injizierten wir nach 24 Stunden 10 bzw. 15 Gamma Endotoxin (ETU₂₉₋₃₀) pro kg Körpergewicht durch den Ohrkatheter und verfolgten dann das Thrombelastogramm, Fibrinogenspiegel, Faktor XIII und den Hämatokrit bis 48 oder 72 Stunden nach der GEE Infusion.

Kontrollgruppe:

Bei drei gesunden Tieren wurde 12 Stunden nach Einlegen des Ohrkatheters jeweils 5 ml Blut alle 24 Stunden auf die beschriebene Weise entnommen und das Verhalten der globalen Gerinnungszeit, des FSF und Plasmafibrinogens kontrolliert. Die ermittelten Werte entsprechen den Veränderungen im Gerinnungssystem, die durch das Einlegen des Katheters und die Blutentnahme entstehen können.

3. Allgemeine Gerinnungsanalysen:

a) Bestimmung der FSF-Aktivität im Plasma:

Die Bestimmung der FSF-Aktivität wurde am Ende eines jeden mehrtägigen Versuches nach dem in unserem Laboratorium entwickelten Verfahren (HEENE, 33) durchgeführt. Das Plasma lagerte in der Zwischenzeit in der Tiefkühltruhe. Eine Abnahme der FSF-Aktivität in gefrorenem Zustand tritt dabei nicht ein.

aa) Als Reagentien wurde FSF-freie Fibrinogenlösung in einer Konzentration von 500 mg/ml benutzt, die von uns für diese Bestimmungen nach der Methode von MOSESSON und FINLAYSON (88) hergestellt wurde.

Für die Prüfung des Fibrinogens auf seine FSF-Freiheit überschichteten wir einen Ansatz aus

0,4 ml NaCl-Lösung pH 7,4
0,2 ml Cysteinlösung 0,05 M
0,2 ml Fibrinogenlösung (5 mg/ml = 1 mg)
0,2 ml Thrombin-CaCl₂, 10 NIH-Einheiten pro ml
CaCl₂ 0,025 M

mit Paraffin und inkubierten ihn 18 Stunden bei 37°C. Zu dem Gerinnsel von 1 ml Volumen wurde dann 2,0 ml des Lösungsmittels (Harnstoffoxalat-Lösung 0,05 M oder Monochloressigsäure-Lösung 0,05 M) gegeben und durch leichtes Schütteln geprüft, ob sich das Gerinnsel in weniger als einer Minute löst. Ist dies der Fall, so wird die Fibrinogenlösung als FSF-frei angesehen.

bb) Als Reagentien wurde weiter 0,05 M Cysteinlösung verwendet, da Cystein eine erhaltende und sogar potenziefnde Wirkung auf die FSF-Aktivität besitzt (LORAND, JACOBSEN, 65, 67, 74, 75) oder seine Dissoziation in Untereinheiten hemmt (LOEWY et al. 63). Um eine Oxydation des Cysteins zu verhindern, wurde es in entgastem aqua bidestillata gelöst.

cc) Als Verdünnungsmittel diente 0,9% NaCl-Lösung, pH 7,4 1:10 mit Imidazol gepuffert (TOCANTINS und HOLBURN, 119).

- dd) Zum Starten der Gerinnung benutzten wir Thrombin- CaCl_2 -Lösung, 10 NIH-Einheiten pro ml 0,025 M CaCl_2 -Lösung (Test-Thrombin Behringwerke).
- ee) Die Gerinnsellöslichkeit wurde mit 2 ml 0,05 M Harnstoff-oxalat-Lösung oder 0,05 M Monochloressigsäure-Lösung geprüft.

Prinzip der FSF-Aktivitätsbestimmung:

Der mit der zu untersuchenden Plasmaprobe zugesetzte FSF wird durch Thrombin- Ca^{2+} aktiviert und führt damit zu einer Stabilisierung des FSF-freien Substratgerinnsels. Cystein potenziert diese Reaktion. Ermittelt wird diejenige Plasma-verdünnung, die gerade noch soviel FSF enthält, um ein unlösliches bzw. partiell lösliches Gerinnsel zu bilden (Lösungszeit größer als 1 Minute).

Ausführung:

Ansatz:

0,2 ml NaCl-Lösung, pH 7,4
0,2 ml Plasmaverdünnung
0,2 ml Cysteinlösung 0,05 M
0,2 ml Fibrinogenlösung (FSF-frei)
0,2 ml Thrombin- CaCl_2

= 1,0 ml Gerinnselvolumen

Die Plasmaverdünnung im Testansatz beträgt 1:5. Die Ansätze werden mit steigender Plasmaverdünnung zwischen 1:100 bis

1:1500 beschickt. Nach Gerinnung des Ansatzes mit Thrombin- CaCl_2 wird das Gerinnsel genau eine Stunde bei 37°C inkubiert und anschließend unter leichtem Schütteln auf seine Löslichkeit geprüft. Die Plasmaverdünnung, die gerade noch ein unlösliches oder partiell lösliches Gerinnsel ergibt (Lösungszeit größer als eine Minute), wird als relatives Maß der FSF-Aktivität angesehen und der Wert des Verdünnungsgrades in Einheiten/ml angegeben.

b) Bestimmung des Plasmafibrinogens:

Die Fibrinogenbestimmung wurde nach der modifizierten Tyrosinmethode von RATNOFF und MENZIE (99) durchgeführt.

0,5 ml Plasma,
0,5 ml CaCl_2 -Lösung, M/40,
8,5 ml NaCl-Lösung, pH 7,4 ,
0,5 ml Thrombin-Lösung (20 NIH-Einheiten/ml
aqua dest.)

wurden 20 Minuten inkubiert, das Gerinnsel anschließend mit einem aufgerauhten Glasstab herausgedreht, auf Filterpapier ausgepreßt, in aqua dest. gewaschen und dann in 1 ml 10 % NaOH 20 Minuten im kochenden Wasserbad erhitzt. Nach Abkühlung wurden

7,0 ml aqua dest.
3,0 ml 20 % NaCO_3 ,
1,0 ml Folin-Reagenz

zugesetzt und die Lösung 10 Minuten bis zum Abschluß der

Farbentwicklung stengelassen. Zur photometrischen Bestimmung der Absorption dieser Lösung benutzten wir den "spectronic" BAUSCH & LOMB (560 μ m). Die Fibrinogenkonzentration wurde nach der Aufstellung einer Eichkurve mit DL-Tyrosin nach folgender Formel berechnet: $2 \times 100 \times K \times \text{mg Tyrosin}$ ($K=11,7$), und auf das Antikoagulans korrigiert.

Heparinplasma wurde zur Fibrinogenbestimmung durch Protaminchlorid neutralisiert. Zu 8,0 ml NaCl-Lösung, pH 7,4 wurden 0,5 ml 0,05% Protaminchloridlösung im Testansatz zugesetzt.

c) Thrombelastographie:

Die globale Gerinnungszeit wurde bei allen Versuchen mit Hilfe des Thrombelastographen nach HARTERT (32) verfolgt. Hierbei werden die während des Gerinnungsvorganges auftretenden Veränderungen der Elastizität und Festigkeit des sich zwischen Küvettenwand und Stempel bildenden Gerinnsels laufend auf Registrierpapier lichtoptisch aufgezeichnet.

Die Reaktionszeit (R -Zeit) im Thrombelastogramm beginnt mit der Rekalzifizierung des benutzten Oxalatblutes bis zur Verbreiterung der thrombelastographischen Kurvenschenkel von insgesamt 1 mm. Die Papiergeschwindigkeit beträgt pro Minute 2 mm. Die Reaktionszeit drückt vorzugsweise die Wirkung der Thrombokinasefaktoren aus. Bei der Messung der R -Zeit aus dem Thrombelastogramm bleibt die Einfüllzeit konstant 30 Sekunden.

Die Koagulationszeit stellt nach HARTERT diejenige Zeit dar, die vom Ende der Reaktionszeit bis zum Auseinanderweichen der Kurvenschenkel um insgesamt 20 mm verstreicht. In diese thrombusbildende Zeit gehen besonders Thrombozytenzahl und -funktion, sowie der Fibrinaufbau ein.

Die maximale Festigkeit des Gerinnsels (Thrombuselastizität) ergibt sich nach einer halben bis einer Stunde aus der maximalen Amplitude der Stempeltorsionsschwingungen (M_E). Sie wird vor allem durch die Thrombozytenzahl und -funktion, Fibrinogenkonzentration, FSF-Aktivität (DUCKERT), sowie etwaige Fibrinolyse beeinflusst.

Im Ansatz wurde 0,6 ml Oxalatblut (1 Teil Natrium-Oxalat 1,34 g% + 9 Teile Blut) und 0,4 ml M/40 CaCl_2 -Lösung (mit einem Zusatz von 0,79 g NaCl auf 100 ml M/40 CaCl_2 -Lösung) versetzt und 0,36 ml dieses rekalkifizierten Blutes in die Kuvette des Thrombelastographen gefüllt. Nach Senken des Stempels wurde das Blut mit Paraffinöl luftdicht überschichtet. Es wurde nur frisch silikoniertes Glasmaterial benutzt.

- d) In den Tierversuchen verfolgten wir bei sämtlichen Blutabnahmen den Hämatokrit.
- e) Bei den Tieren der Gruppen 2 und 3 wurden zusätzlich die Thrombozyten nach FEISSLY und LÜDIN (22) bestimmt.

Neben den oben genannten Bestimmungen wurden im Rahmen der Untersuchung des Einflusses von GEE auf das Gerinnungssystem in vitro folgende Tests durchgeführt. Gemessen wurde in allen Fällen nur die Veränderung der Gerinnungszeit, da prozentuale Aussagen über die Aktivität der untersuchten Parameter infolge der abgewandelten Versuchsbedingungen nicht möglich sind.

f) Globalteste:

- aa) Die Veränderungen der globalen Gerinnungszeit am Thrombelastographen unter Zusatz abgestufter GEE-Konzentrationen wurden an Humanblut untersucht.

25 ml Citratblut (1:10) wurde mit einer Kanüle $\varnothing$ 1,2 mm abgenommen und direkt verarbeitet. Zur Orientierung über die erforderlichen GEE-Konzentrationen, die im TEG zu signifikanten Veränderungen führen, wurden 3 Thrombelastogramme geschrieben, wobei die zur Rekalzifizierung verwendete M/40 CaCl_2 -Lösung aus:

- a. 1 Teil M/4 CaCl_2 -Lsg. + 9 Teile 1M GEE/ 0,9 % NaCl-Lsg.,
 - b. 1 Teil M/4 CaCl_2 -Lsg. + 9 Teile 0,5M GEE/ 0,9 % NaCl-Lsg.,
 - c. 1 Teil M/4 CaCl_2 -Lsg. + 9 Teile 0,1M GEE/ 0,9 % NaCl-Lsg.,
- zusammengesetzt war.

Die weiteren Versuche wurden mit 0,5 M GEE in 0,9 % NaCl-Lösung durchgeführt, wobei die M/40 CaCl_2 -Lösung wie folgt zusammengesetzt war:

Die Reihenverdünnung von GEE in Kochsalzlösung wurde, ausgehend von einer Stammlösung von 100 mg GEE/ml NaCl-Lösung als Verdünnung 1:1, in den Verdünnungsstufen bis 1:128 hergestellt. Die Gerinnungszeit wurde mit der Platinöse bestimmt.

- cc) Zur Bestimmung der "partiellen Thromboplastinzeit" unter Einfluß von GEE wurde folgender Test nach LANGDELL, WAGNER und BRINKHOUS (51) durchgeführt.

Ansatz: 0,2 ml plättchenarmes Citratplasma (1:10)
0,2 ml partielles Thromboplastin-Reagenz (Behring)
0,1 ml einer GEE-Reihenverdünnung in 0,9 %
NaCl-Lösung (wie unter bb)

Inkubation 2 bzw. 10 Minuten, 37°C

0,2 ml CaCl_2 -Lösung M/40

Unter leichtem Kippen des Röhrchens wurde der Zeitpunkt der Gerinnung gestoppt.

- dd) Zur Orientierung über eine Störung der Fibrinogen-Fibrin-Umwandlung oder einer Aktivierung von Thrombininhibitoren durch GEE wurde die Thrombinzeit (119) durchgeführt.

Ansatz: 0,1 ml Citratplasma (1:10)
0,1 ml einer GEE-Reihenverdünnung in 0,9 %
NaCl-Lösung (wie unter bb)

Inkubation 20-30 Sekunden bei 37°C

0,1 ml Thrombinlösung (1:10 verdünnte Thrombinstammlösung von 60 NIH-Einheiten/
ml aqua destillata)

Die Gerinnungszeit wurde mit der Platinöse ermittelt.

g) Bestimmung einzelner Gerinnungsfaktoren:

1. Die Bestimmung der Aktivität der Faktoren Prothrombin und Faktor V wurde nach SCHULTZE und SCHWICK (108) folgendermaßen vorgenommen. Es wurden zwei Methoden verwendet, die jeweils andere GEE-Konzentrationsbereiche umfaßten, um die Prothrombinaktivität zu ermitteln:

a. Von einer GEE-Stammlösung (100 mg GEE/ml Diäthylbarbiturat-Acetat-Puffer pH 7,6 = Verdünnung 1:1) wurde eine Reihenverdünnung in Diäthylbarbiturat-Acetat-Puffer hergestellt mit den Verdünnungsstufen 1:2 bis 1:64, wovon jeweils 1,9 ml zu 0,1 ml Plasma gegeben wurde, um die für das Einphasenverfahren geforderte Plasmaverdünnung 1:20 in Diäthylbarbiturat-Acetat-Puffer zu erhalten.

Ansatz: 0,2 ml der Plasmaverdünnung in GEE-Diäthylbarbiturat-Acetat-Puffer (1:20)

0,2 ml Prothrombinreagenz (Behringwerke)

Inkubation 30 Sekunden bei 37°C

0,1 ml CaCl_2 -Lösung M/40

Die Zeit von der Zugabe der CaCl_2 -Lösung bis zum Eintritt der Gerinnung wurde ermittelt.

b. Hier wurde nach dem gleichen Verfahren, wie unter f)bb beschrieben, eine Reihenverdünnung von GEE in 0,9 % NaCl-Lösung hergestellt und 0,5 ml Plasma mit je 0,5 ml dieser GEE-Verdünnung 5 Minuten inkubiert. Die Plasmaverdünnung beträgt 1:2, so daß nach Zugabe von 1,8 ml Diäthylbarbiturat-Acetat-Puffer zu 0,2 ml der inkubierten

Die Plasma-GEE-Lösung wurde durch Mischung von 0,1 ml Citratplasma (1:10) mit 0,4 ml einer GEE-Verdünnungsreihe in Veronalpuffer hergestellt, wobei als Stammlösung 100 mg GEE/ml Veronalpuffer benutzt wurde. Die Verdünnungsreihe umfaßte die Stufen 1:1 bis 1:128.

3. Modifikation des Testes zur Bestimmung der FSF-Aktivität im Plasma unter dem Einfluß abnehmender GEE-Konzentrationen.

- a. 0,5 ml Citratplasma wurde mit je 0,5 ml einer GEE-Verdünnungsreihe (in NaCl-Lösung) und 9 ml physiologischer Kochsalzlösung versetzt, so daß das Plasma 1:20 verdünnt war. Diese GEE-Verdünnungsreihe stellten wir, ausgehend von einer Stammlösung von 100 mg GEE/ml NaCl-Lösung (=Verdünnung 1:1), in den Verdünnungen 1:2 bis 1:64, her. Jeder Ansatz dieser Plasmaverdünnungen in GEE-Lösung wurde weiter in NaCl-Lösung verdünnt, so daß unter Einbeziehung einer zusätzlichen Plasmaverdünnung im Ansatz des FSF-Testes von 1:5 schließlich Gesamtplasmaverdünnungen von 1:200 bis 1:1200 in 200er Schritten vorlag.

Dieser Test sollte eine Aussage darüber gestatten, ob während der Inkubation der Plasmaverdünnung mit der GEE-Lösung eine Beeinflussung der FSF-Aktivität im Sinne einer Hemmung stattfindet, was sich dann im Testansatz in einer veränderten Löslichkeit der Fibringerinnsel in Harnstoff-Oxalat zeigen mußte.

- b. Zum anderen wurde der FSF-Test so modifiziert, daß die im Testansatz enthaltenen 0,2 ml NaCl-Lösung durch die gleiche

Menge einer GEE-Reihenverdünnung ersetzt wurde. Dadurch war es möglich, Aussagen über Veränderungen des aktiven Faktors XIII bzw. über eine Beeinflussung der Umwandlung von urea-löslichem Fibrin in urea-unlösliches Fibrin zu machen.

4. Um ein abgerundetes Bild über den in vitro Einfluß von GEE auf das Gerinnungssystem und die Thrombocyten zu erhalten, wurde der Plättchenfaktor-3-Freisetzungstest nach HARDISTY und HUTTON (29) durchgeführt.

20 ml Citratblut (1:10) wurden in zwei sorgfältig silikonierte Zentrifugengläser mit einer innen polierten V₂A-Kanüle abgenommen, durch mehrfaches Kippen gut durchmischt und anschließend 3 Minuten bei 1500 U/Minute zentrifugiert. Das plättchenreiche Plasma wurde mit einer silikonierten Pipette abgehoben und für den Ansatz sofort verwendet.

Die GEE-Stammlösung enthielt 100 mg GEE pro ml 5% Kaolinsuspension. Davon stellten wir alle anderen GEE-Konzentrationen durch Verdünnung in 5 % Kaolinsuspension her.

Ansatz: 0,2 ml plättchenreiches Plasma
 0,2 ml GEE-haltiger Kaolinsuspension

Inkubation 20 Minuten bei 37°C

0,2 ml CaCl₂-Lösung M/40

Durch Kippen des Mikroreagenzglases wurde der Zeitpunkt der Gerinnung ermittelt.

Das verwendete Glycinäthylesterhydrochlorid (GEE) hat ein Molekulargewicht von 139,59 . Es wurde von der Fluka AG , Buchs, Schweiz, bezogen.

C. Ergebnisse:

I. Tierexperimentelle Untersuchungen am SANARELLI-

SHWARTZMAN-Phänomen:

1. Gruppe: Verhalten des FSF im Verlaufe der experimentellen Verbrauchskoagulopathie des Kaninchens, am Beispiel des generalisierten SSP.

Bei diesen Tieren wurde durch zweimalige Injektion von Endotoxin gramnegativer Bakterien im Abstand von 24 Stunden ein generalisiertes SANARELLI-SHWARTZMAN-Phänomen ausgelöst, dessen Verlauf durch protrahierten Schock und hämorrhagische Diathese charakterisiert war. Während die erste Endotoxininjektion von den meisten Tieren ohne große Beeinträchtigung des Allgemeinbefindens vertragen wurde, so zeigte sich schon kurz nach der zweiten Gabe des Lipopolysaccharides von E.coli ein sich allmählich vertiefendes Schockbild, das von Tachypnoe, Tachykardie und völliger Apathie begleitet war. Von 26 Tieren, die auf diese klassische Weise der Versuchsanordnung des generalisierten SSP unterworfen wurden, überlebten 12 die zweite Endotoxininjektion um 6 - 60 Stunden, wobei 10 die von THOMAS (9) als pathognomonisch angesehene doppelseitige Nierenrindennekrose aufwiesen (= 83 %). 8 Tiere starben zwischen der Applikation der ersten und zweiten Endotoxininjektion, wohl an den Folgen eines akuten Rechtsherzversagens oder an Herzrhythmusstörungen (LASCH, 52). Diese Tiere (ca. 30 %) wurden bei der Auswertung unberücksichtigt gelassen.

Unsere Versuche zeigten, daß auch der Fibrinstabilisierende Faktor (FSF) bei der experimentellen Verbrauchskoagulopathie des Kaninchens dieser allgemeinen Verbrauchsreaktion unterliegt. Bei der Bestimmung der FSF-Aktivität im Plasma der Versuchstiere der Gruppe 1 (Tab. 1) konnten wir gesetzmäßige Veränderungen dieses Faktors nachweisen. Unmittelbar nach der präparativen ersten Endotoxininjektion kommt es zu einem starken Abfall der FSF-Aktivität im Plasma, der schon nach einer Stunde deutlich ausgeprägt ist ($p < 0,001$). Die stärkste Verminderung der FSF-Aktivität beobachteten wir 6 Stunden post injectionem, wobei eine Normalisierung vor der zweiten Injektion, wie sie die anderen Gerinnungsfaktoren aufweisen, nicht erfolgt. Nach der zweiten Injektion fällt die Aktivität des Faktors XIII von dem erniedrigten Ausgangspotential weiter ab, um 6 Stunden später minimale Werte zu erreichen, wobei eine Erholung der FSF-Aktivität selbst innerhalb 48 Stunden nach der zweiten Injektion nicht beobachtet wurde. Dieses charakteristische Verhalten der FSF-Aktivität fanden wir bei allen endotoxinbehandelten Tieren, auch bei denen, die infolge eines zu frühen Todes nach der auslösenden Injektion eine bilaterale Nierenrindennekrose nicht aufwiesen. Eine Übersicht über die Mittelwerte der FSF-Aktivität, Plasmafibrinogen und maximale Thrombuselastizität (M_E) zeigt Tab. 6. Hieraus geht hervor, daß die Aktivität des FSF im Plasma des unbehandelten Kaninchens zwischen 700-1300 Einheiten beträgt. Der Mittelwert von 43 Tieren liegt bei 918 Einheiten, was den Verhältnissen beim Menschen sehr nahe kommt (MÜNCH, 92). 6 bis 24 Stunden nach der zweiten Injektion sinkt der FSF auf 100-300 Ein-

heiten ab. In keinem Falle aber wurde sein völliges Verschwinden aus dem Plasma beobachtet.

Neben der Aktivität des FSF bestimmten wir das Plasmafibrinogen und die globale Gerinnungszeit am Thrombelastographen in den gleichen Zeiträumen, um vergleichbare Bezugsgrößen zu erhalten (Tab.2,3,4). Dabei zeigt der Verlauf der Mittelwerte des Fibrinogens (Abb.4), daß der initiale Abfall dieses Gerinnungsfaktors am Ende der ersten Stunde nahezu beendet ist und nach 6 Stunden langsam wieder ansteigt, so daß er nach 24 Stunden, also vor der zweiten Endotoxininjektion, den Ausgangswert weit überschritten hat. Von diesem erhöhten Gerinnungspotential aus ist der Fibrinogenabfall nach der auslösenden Injektion, als Folge einer diffusen intravaskulären Gerinnung, wesentlich größer und erreicht 6 Stunden später ein Minimum. Überleben die Tiere länger, so wird ein steiler Anstieg des Plasmafibrinogens beobachtet.

Bei allen Tieren wurde das Verhalten der Blutgerinnung fortlaufend thrombelastographisch kontrolliert, um einen Anhalt für das Ausmaß der Gerinnungsstörung zu erhalten. Abb.3 zeigt an einem Beispiel die charakteristischen Veränderungen der zunehmenden Verbrauchskoagulopathie mit initialer Hyperkoagulabilität und folgender Hypokoagulabilität, deren Ursache neben dem Aktivitätsverlust einzelner Gerinnungsfaktoren, der qualitativen und quantitativen Störung der Thrombocyten, auch mit in einem FSF-Defizit zu suchen ist. DUCKERT et al.(21) zeigten, daß bei einem

isolierten FSF-Mangel am Thrombelastogramm nach anfänglich normaler Blutgerinnung eine schnelle Abnahme der maximalen Thrombuselastizität erfolgte, deren Ursache die mangelnde Fibrinstabilisierung war. Wie aus Tab.4 ersichtlich, verschmälert sich die maximale Amplitude (M_E) 6 Stunden nach der zweiten Injektion wieder. Die auslösende Endotoxingabe führt dann im Laufe von 6 Stunden zu einer signifikanten Reduktion der maximalen Amplitude, die, wenn die Tiere diesen Zeitpunkt überleben, sich mit dem Wiederanstieg des Plasmafibrinogens und der Thrombozyten zurückbildet.

Die bei den einzelnen Versuchen benutzten Endotoxindosen, die Überlebenszeit der Tiere und die Ergebnisse der Sektion sind in Tab. 7 summarisch zusammengestellt.



Abb.2: SANARELLI-SHWARTZMAN-
Phänomen des Kaninchens:

Bilaterale Nierenrindennekro-
sen, multiple subpleurale und
subepicardiale Blutungen, sowie
Hämorrhagie am Pylorus im
Verlaufe des SSP beim Ver-
suchstier K 15 der Gruppe 1

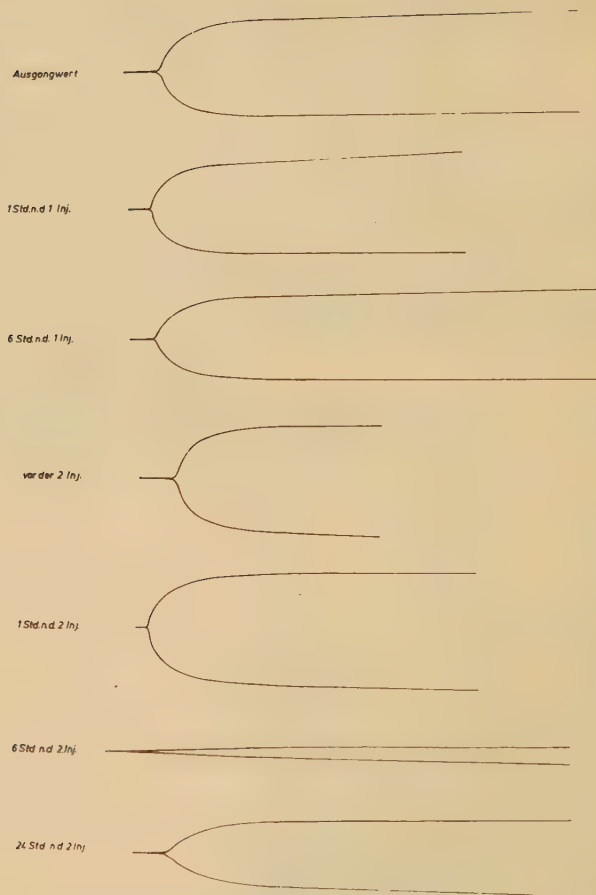


Abb. 3: SANARELLI-SHWARTZMAN-Phänomen des Kaninchens:

Thrombelastographische Registrierung der Gesamtgerinnung
im Verlaufe des SSP beim Versuchstier K 15 der Gruppe 1

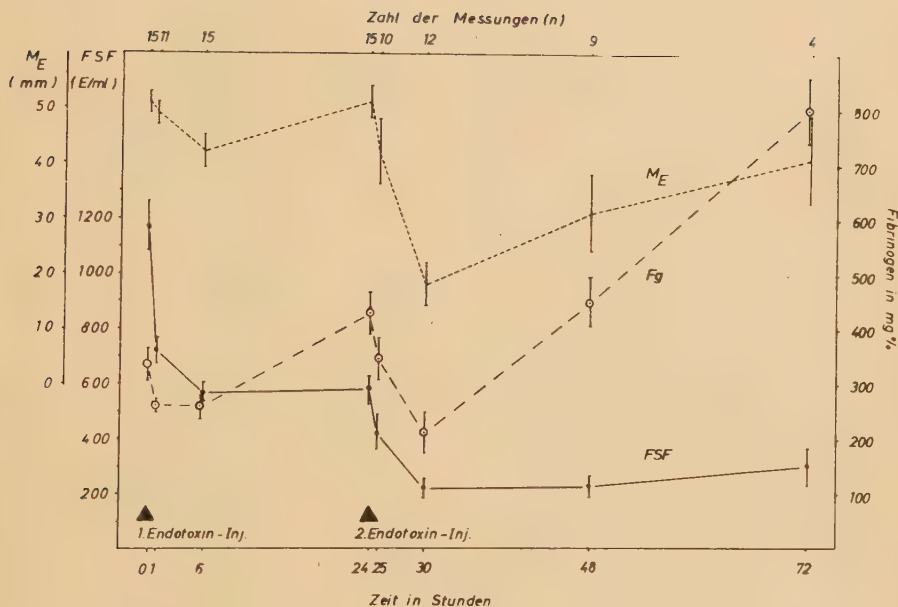


Abb. 4: SANARELLI-SHWARTZMAN-Phänomen des Kaninchens:

Aktivitätsveränderungen des Fibrinstabilisierenden Faktors (FSF), des Plasmafibrinogens (Fg), sowie Änderungen der maximalen Thrombuselastizität (M_E) nach der ersten und zweiten Endotoxininjektion.

In der Tabelle ist die Standardabweichung der Mittelwerte der Versuchstiere der Gruppe 1 angegeben.

Gruppe.	Nr.	FSF Ausgangswert (E/ml)	1. Endotoxin- injektion			2. Endotoxin- injektion			FSF nach	doppel- seitige Nieren- rinde- nekrose	Spontan- tod (s) od. getötet (g) im Std. nach der 1. Endotoxininj.
			1. Std.	6 Std.	24 Std.	25 Std.	30 Std.	48 Std.	72 Std.		
1	3	1500	+	700	600	+	300	500	500	-	72 (s)
	4	1400	+	600	700	+	400	200	300	+	72 (g)
	5	1300	+	800	800	+	100			+	30 (s)
	6	1300	+	500	500	+	300			+	33 (s)
	7	1400	+	800	600	+	500			-	25 (s)
	8	1500	+	800	600	+	400			-	27 (s)
	14	1400	+	700	500	+	400	100	200	+	50 (s)
	15	1400	+	1000	900	+	700	300	200	+	72 (g)
	16	1100	+	700	400	+	100			-	25 (s)
	17	700	+	500	300	+	200			+	32 (s)
	19	1500	+	800	700	+	500	300	200	+	84 (g)
	20	500	+	500	200	+	100	100		-	48 (g)
	21	700	+	600	400	+	300	100	200	+	48 (g)
	22	900	+	500	500	+	500	200	200	+	48 (g)
	25	900	+	900	900	+	700	200	200	+	48 (s)

Tab. 1: Übersicht über die Einzelwerte des Fibrinstabilisierenden Faktors (FSF) in E/ml im Verlaufe der experimentellen Verbrauchskoagulopathie des Kaninchens.

Gruppe	Nr.	Fg Ausgangs- wert (mg%)	1. Injektion		2. Injektion		Fibrinogen nach		Fibrinogen nach		doppel- seitige Nieren- rinden- nekrose	Spontanod (s) od. getötet (g) in Std. nach der 1. Endotoxininj.
			1 Std.	6 Std.	24 Std.	25 Std.	30 Std.	40 Std.	72 Std.	72 Std.		
1	3	640	+	500	620	+	330	480	760	-	-	72 (s)
	4	296	+	260	460	+	296	500	880	+	+	72 (g)
	5	480	+	364	580	+	20			+	+	30 (s)
	6	422	+	190	342	+	286			+	+	33 (s)
	7	286	+	280	130	+	156			-	-	25 (s)
	8	286	+	252	176	+	452			-	-	27 (s)
	14	324	+	312	236	+	360	296		+	+	50 (s)
	15	300	+	294	272	+	360	448	700	+	+	72 (g)
	16	414	+	246	252	+	176			-	-	25 (s)
	17	270	+	252	286	+	80			+	+	32 (s)
	19	360	+	300	250	+	520	700	860	+	+	84 (g)
	20	252	+	212	180	+	342	460		-	-	48 (g)
	21	270	+	270	246	+	256	400		+	+	48 (g)
	22	200	+	210	246	+	340	360		+	+	40 (g)
	25	190	+	210	176	+	460	392		+	+	48 (s)

Tab. 2: Übersicht über die Einzelwerte des Plasmafibrinogens (Fg) in mg% im Verlaufe der experimentellen Verbrauchekoagulopathie des Kaninchens.

Gruppe	Nr.	R-Zeit Ausgangswert (Min.)	1. Endotoxin- injektion		2. Endotoxin- injektion		doppel- seitige Nieren- rinden- nekrose	Spontan- tod (s) od. getötet (g) in Std. nach der 1. Endotoxininj.
			Reaktionszeit nach 1 Std. 6 Std. 24 Std.	Reaktionszeit nach 25 Std. 30 Std. 48 Std. 72 Std.				
1	3	+	+	+	8'30" 6'48" 7'	-	72 (s)	
	4	+	+	+	8'30" 9' 6'	+	72 (g)	
	5	6'30"	+	5'30" 6'	*	+	30 (s)	
	6	4'30"	+	8'30" 7'30"	4'30"	+	33 (s)	
	7	6'	+	7'30" 6'	10'	-	25 (s)	
	8	4'30"	+	8'30" 9'30" 9'	+	-	27 (s)	
	14	9'	+	6' 6'30" 8'30"	3' 5' 8'	+	50 (s)	
	15	6'30"	+	7'30" 3'48" 11'	9' 7'30" *	+	72 (g)	
	16	5'	+	4' 4'30" 8'30"	5'	-	25 (s)	
	17	6'12"	+	4'20" 5'30"	10'	+	32 (s)	
	19	+	+	5' 5'30" 9'	6' 4'30" 16' 7'30"	+	84 (g)	
	20	4'30"	+	4' 4'12" 5'	6' 6'20" 6'30"	-	48 (g)	
	21	3'	+	3' 5'30" 7'	5'30" 12'30" 15'30"	+	48 (g)	
	22	3'	+	4'30" 5'	8'30" 5'30" 8'30"	+	48 (g)	
	25	4'	+	4'30" 3'	9' 6' 40' *	+	48 (s)	

Tab. 31 Übersicht über die Kinselwerte der Reaktionszeit (R-Zeit) in Minuten im Verlaufe der experimentellen Verbrunnskegulgopelnie des Kaminchens. (*- unendlich)

Gruppe	Nr.	M _E Ausgangswert		Injektion		M _E (mm) nach		Injektion		doppel-seitige Nierenrinden- nekrose	Spontantod. (s) od. getötet (g) in Std. nach der 1. Endotoxininj.
		1 Std.	6 Std.	24 Std.	25 Std.	30 Std.	48 Std.	72 Std.			
1	3				+		24,5	29	54	-	72 (s)
	4				+		26,5	39	43	+	72 (g)
	5	50		43	+	51	0			+	30 (s)
	6	45		33	+	28	8			+	33 (s)
	7	52	50	32	+			10		-	25 (s)
	8	56	53	34	+	49				-	27 (s)
	14	54	53	47	+	60	9	49		+	50 (s)
	15	54	52	37	+	50	13,5	0	17	+	72 (g)
	16	53	53	48	+	48		25		-	25 (s)
	17	52	60	53	+		3			+	32 (s)
	19		58	53	+	55		48	34,5	+	84 (g)
	20	40	39	31,5	+	42	37	48		-	48 (g)
	21	61	42,5	58	+	60		28	19	+	48 (g)
	22	52	35	42	+	67	42	67	56	+	48 (g)
	25	40	41	36	+	56	4	55	0	+	48 (s)

Tab. 4: Übersicht über die maximale Thrombuselastizität (M_E) des WEG im Verlaufe der experimentellen Verbrauchekoagulopathie des Kaninchens.

Gruppe	Nr.	Hämatokrit Ausgangswert (%)	1. Endotoxin- injektion		2. Endotoxin- injektion		doppel- seitige Nieren- rinden- nekrose	Spontan- tod (s) od. getötet (g) in Std. nach der 1. Endotoxininj.
			1 Std.	6 Std. 24 Std.	25 Std.	30 Std. 48 Std. 72 Std.		
1	3	41	+	42	36	+	-	72 (s)
	4	39	+	38	33	+	+	72 (g)
	5	32	+	30		+	+	30 (s)
	6	39	+	35	H	+	+	33 (s)
	7	37	+	39	36 H 33	+	-	25 (s)
	8	34	+	33	32	+	-	27 (s)
	14	33 H	+	36	29	+	+	50 (s)
	15	36	+	33 H	34	+	+	72 (g)
	16	35 H	+	37	38	+	-	25 (s)
	17	38 H	+	39	36	+	+	32 (s)
	19	41	+	40	35	+	+	84 (g)
	20	37	+	34	33	+	-	48 (g)
	21	30	+		33	+	+	48 (g)
	22	33	+	31	30	+	+	48 (g)
	25	35	+	34	29	+	+	48 (s)

Tab. 51 Übersicht über den Hämatokrit in % im Verlaufe der experimentellen Verbrauchskoagulopathie des Kaninchens. (H = hämolytisch)

Ausgangs- wert		1. Endo- toxin- inj.	1. Std.	6. Std.	24. Std.	2. Endo- toxin- inj.	25. Std.	30. Std.	48. Std.	72. Std.
P	S	M	709	560	573		420	217	222	300
(E/ml)			± 170	± 155	± 197	+	± 210	± 103	± 109	± 141
S	S	S _M	51	40	51		66	30	36	71
n	n	n	11	15	15		10	12	9	4
Fibrinogen	M		258	256	426		342	210	448	800
(mg%)			± 37	± 84	± 157	+	± 119	± 131	± 134	± 121
S	S	S _M	11	22	40		38	38	45	60
n	n	n	11	15	15		10	12	9	4
M _E (mm)	M		49	42	51		42	18	31	41
	S		± 8	± 9	± 10	+	± 19	± 14	± 21	± 17
S _M	S _M		2	2	3		6	4	7	8
n	n		11	13	11		9	11	9	4
Hämatokrit (%)			36	34	31	+	28	29	26	26

Tab. 61 Mittelwerte des Fibrinstabilisierenden Faktors (FSF), des Fibrinogens, der maximalen Thrombuselastizität (M_E), sowie des Hämatokrits bei der experimentellen Verbrauchskoagulopathie der Versuchstiere der Gruppe 1.

M = Mittelwert

S = Standardabweichung

S_M = Standardabweichung des Mittelwertes

n = Zahl der Messungen

Nr.	Tier Gewicht (kg)	Antidotum od. Gift (g)		Spontaner Tod od. Gift in St. nach der Antidotumg.		SSP	makroskopischer Sektionsbefund			
		1.	2.	1.	2.		Mere	Herz	Lunge	sonst. Organe
1	2,2	50	50	24	1/2 (s)	-	O.B.	re Dilat.	hämorrh. Infarkte	Milz u. Leber vergrößert
2	2,2	50	50	25	(s)	-	O.B.	re Dilat.	hämorrh. Infarkte	Milz gestaut
3	2,0	40	40	72	(s)	-	Oberfläche fleckig	re Dilat.		
4	2,0	40	40	72	(s)	+	NRN		multiple Infarkte	Leber gelblich
5	3,75	30	100	30	(s)	+	NRN			Leber gelblich
6	3,2	30	100	33	(s)	+	blutige NRN			
7	2,15	30	80	25	(s)	-	O.B.	re Dilat.		Blutungen unter Leberkapsel u. am Darm
8	2,15	30	80	27	(s)	-	O.B.			
9	1,9	30		3	(s)	-	O.B.			
10	2,5	30		2	(s)	-	O.B.			
11	2,8	20		4	(s)	-	O.B.			
12	2,7	20		5	(s)	-	O.B.			
13	2,5	30		24	(s)	-	O.B.	subepicard. hämorrh. Infarkte	petichiale Darm- blutungen	
14	2,1	30	100	50	(s)	+	NRN	re Dilat.		Leber verfettet, Milz gestaut
15	2,8	30	100	72	(s)	+	NRN	subepicard. multiple Blutung		Darmblutung
16	2,2	30	100	25	(s)	-	O.B.	re Dilat.		Milz gestaut

Tier Nr.	Gewicht (kg)		Endotoxin (Gamma/kg)		Spontanod (s) od. getötet (g) in Std nach der	1. endotoxininj. SSP	Niere	Herz	Lunge	sonst. Organe
	1.	2.	1.	2.						
17	2,2	30	100	32	(s)	+	NRN	subepicard. Blutungen re Dilat.	hämorrh. Infarkte	Blutung in den Thymus Leber verfettet
18	2,1	30	100	25	1/2(s)	-	o.B.			
19	2,5	30	100	84	(g)	+	NRN	subepicard. Blutungen	hämorrh. Infarkte Ödem	Darmblutung Leber verfettet
20	1,6	30	100	48	(g)	-	o.B.	re Dilat.	hämorrh. Infarkte	Mils gestaut Ödem
21	2,9	30	100	48	(g)	+	NRN	subepicard. Blutungen re Dilat.	hämorrh. Infarkte	Mils gestaut
22	2,6	30	100	48	(g)	+	NRN		hämorrhagische Infarkte	Mils max. gestaut
23	2,9	30		20	1/2(s)	-	o.B.	re Dilat.	hämorrh. Infarkte	
24	2,7	30		1	(s)	-	o.B.			
25	2,7	30	100	48	(s)	+	NRN	subepicard. Blutungen	hämorrh. Infarkte	Mils gestaut
26	2,9	30		3	(s)	-	o.B.			

Tab. 7: Zusammenstellung der Lindotoxingaben, sowie des makroskopischen Sektionsbefundes bei den Versuchstieren der Gruppe 1 im Verlaufe der experimentellen Verbrauchskoagulopathie.

2. Gruppe: Veränderungen des FSF im Verlaufe des generalisierten SSP am heparinisierten Kaninchen.

Auch die Tiere dieser Gruppe wurden durch zweimalige Injektion von Endotoxin gramnegativer Bakterien der klassischen Versuchsanordnung des generalisierten SSP unterworfen. Vor der präparativen Injektion wurde bereits mit der Heparinisierung begonnen, die alle 6 Stunden durch Applikation von 5000 Einheiten Heparin/kg erneuert wurde. Durch diese Versuchsanordnung konnten wir in allen Fällen die Fibrinablagerung in der Niere verhindern, was sich makroskopisch durch das Fehlen der charakteristischen Nierenrindennekrosen äußerte. Ein Tier starb zwei, ein anderes acht Stunden nach der zweiten Endotoxingabe.

Die Bestimmung der FSF-Aktivität zeigt, daß trotz der Heparinisierung ganz ähnliche Veränderungen dieses Faktors auftreten wie bei den Tieren der ersten Gruppe, die allein der zweimaligen Endotoxinapplikation unterworfen worden sind. Der Abfall des Faktors XIII in der ersten Stunde nach der Endotoxingabe ist unbedeutend und erst nach sechs Stunden deutlich ausgeprägt. Eine Erholung dieses Faktors, wie sie bei einer Reihe anderer Gerinnungsfaktoren beobachtet wird, erfolgt dabei nicht. Eine Stunde nach der auslösenden Injektion ist der Faktor XIII abermals abgesunken. Von diesem niedrigen Potential aus zeigte sich in den folgenden 24 Stunden keine Normalisierungstendenz. Der Mittelwert des FSF ist eine Stunde nach der zweiten Injektion

gegenüber dem Ausgangswert signifikant abgefallen ($p < 0,001$). Das Verhalten der Mittelwerte des FSF ist in Tab. 8 und Abb. 5 dargestellt. Die gleichzeitige Bestimmung des Plasmafibrinogens ergab einen kontinuierlichen Anstieg dieses Gerinnungsfaktors während der ganzen Versuchsdauer. Ein Absinken des Fibrinogens unmittelbar nach den Endotoxingaben, wie wir es ohne Heparinisierung beobachteten, erfolgte bei dieser Dosierung nicht. Der Abfall der Thromboocyten ist in Tabelle 8 dargestellt.

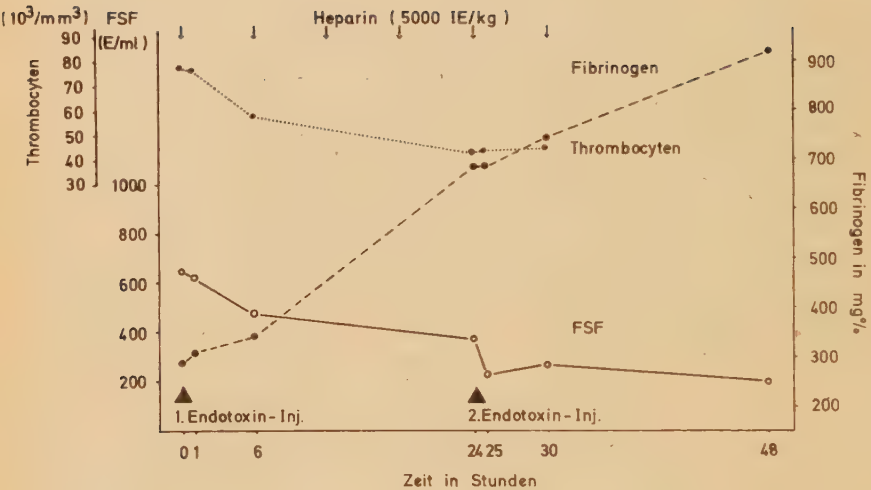


Abb. 5: Mittelwertskurven des Fibrinstabilisierenden Faktors (FSF), des Fibrinogens und der Thrombocyten beim generalisierten SSP des Kaninchens unter Applikation von 5000IE Heparin pro kg Körpergewicht alle 6 Stunden (Gruppe 2)

Gruppe	Nr.	Ausgangs- wert	Heparin 10 Min.	1. Endotoxin- injektion	1 Std. 6 Std.	Heparin nach 6, 12, 18 Std.	24 Std.	Heparin 24 Std. 10 Min.	2. Endotoxin- injektion	25 Std. 30 Std.	Heparin 48 Std.
2	61	600	+	600	+	400	+	200	+	200	+
	62	700	+	600	+	600	+	200	+	200	+
	63	900	+	1000	+	600	+	100	+	400	+
	64	400	+	300	+	300	+	200	+	200	+
	MW	650		625		475		375		225	
								175		266	
	61	376	+	392	+	372	+	504	+	796	+
	62	260	+	260	+	316	+	808	+	356	+
	63	290	+	312	+	290	+	580	+	600	+
	64	230	+	392	+	263	+	850	+	725	+
	MW	289		339		310		686		685	
								557		744	
	61	82000	+	50000	+	52000	+	26000	+	34000	+
	62	70000	+	90000	+	50000	+	16000	+	36000	+
	63	71000	+	126000	+	109000	+	63000	+	44000	+
	64	86000	+	68000	+	94000	+	64000	+	59000	+
	MW	77250		83500		76250		42250		43250	
								34250		44333	

Tab. 8: Zusammenstellung der Einzel- und Mittelwerte des Fibrinstabilisierenden Faktors (FSF), des Plasmafibrinogens, sowie der Thrombozyten am heparinisierten Kaninchen im Verlaufe des SSP (Heparindosis 5000 E/kg).
(MW = Mittelwert)

II. Glycinäthylester, ein Hemmer der Fibrinpolymerisation, und sein Einfluß auf das Gerinnungssystem in vitro:

Die Untersuchungen wurden mit Humanblut durchgeführt. Dabei ergaben abgestufte Konzentrationen von GEE im Testansatz charakteristische Veränderungen der globalen Gerinnungszeit, wie sie in der Abb. 7 graphisch dargestellt sind. Ansteigende Konzentrationen von GEE führen am Thrombelastographen zu einer zunehmenden Verschmälerung der maximalen Amplitude (M_E) und Verlängerung der Reaktionszeit, bis bei einer Konzentration von über 42 mg GEE/ml Blut eine vollständige Hemmung der Gerinnung zu beobachten ist (Tab.9). In Abb.6 ist ein solcher charakteristischer Verlauf an Hand der Thrombelastogramme wiedergegeben. Um herauszufinden, welche Veränderungen im Gesamtsystem der Gerinnungsfaktoren unter GEE-Einfluß für diesen Effekt verantwortlich sind, führten wir eine Reihe von Gerinnungsanalysen durch. Eine Übersicht über das Verhalten der Faktoren II, V und VIII bei GEE-Zusatz, gemessen als Veränderung der Einphasengerinnungszeit, zeigt Abb.8 und Tab.10. Auffallend ist der parallele Verlauf der ermittelten Kurven mit einem ausgesprochenen Hemmeffekt in den Ansätzen, die mit GEE-Verdünnungen unter 1:8 beschickt wurden. Sie stimmen mit den Veränderungen der Thrombin- und Thromboplastinzeit (QUICK), sowie der "partiellen Thromboplastinzeit" (PTT) überein (Abb.8 und 9, Tab.10). Diese Befunde zeigen, daß eine spezifische Hemmung eines einzelnen Faktors nicht für die unter GEE-Zusatz beobachtete

Verlängerung der Gerinnungszeit verantwortlich gemacht werden kann. Ihr scheint vielmehr eine Störung der Umwandlungsphase des Fibrinogens in Fibrin zugrunde zu liegen. Die stabilisierende Wirkung von Glycinäthylester auf die Faktor VIII-Aktivität, die kürzlich KISKER (41) beschrieben hat, zeigte sich bei unserer Versuchsanordnung nicht.

Auch der Plättchenfaktor-3-Freisetzungstest, dessen Ergebnisse in Tab.11 zusammengefaßt sind, zeigte eine ähnliche Hemmung der Gerinnungszeit unter GEE. Die Untersuchungen wurden mit plättchenreichem Plasma vom Menschen mit unterschiedlichem Thrombocytengehalt durchgeführt. Die in der Hälfte der Fälle beobachtete vermehrte Freisetzung von Plättchenfaktor-3 bei sehr niedrigen GEE-Konzentrationen im Testansatz ließ sich aber nicht konstant reproduzieren (Abb.10).

Die Beobachtungen von LOEWY et al. (68), daß ^{14}C -markiertes Glycinäthylester in geringem Umfange in FSF inkorporiert wird, veranlaßten uns, in einem modifizierten FSF-Test zu prüfen, ob nach Vorinkubation gleicher Volumina FSF-haltigen Plasmas und GEE-Lösung in physiologischer Kochsalzlösung eine Veränderung der FSF-Aktivität eintritt. Die Ergebnisse sind in Abb.11 zusammengefaßt und zeigen, daß bei keiner geprüften GEE-Konzentration eine signifikante Beeinflussung der FSF-Aktivität stattfindet. Die Schwankungen der Gerinnungslöslichkeit in Harnstoff-Oxalat spiegeln nur die Streubreite des Tests wieder. Die mit der Plasmaverdünnung

in den Testansatz eingebrachte Menge GEE ist andererseits zu gering gegenüber der hohen Fibrinogenkonzentration, um dessen Polymerisation bei Thrombinzusatz wirkungsvoll zu hemmen. Wird dagegen GEE in genügend hoher Konzentration direkt in den Testansatz gebracht, so tritt, wie Abb. 12 zeigt, eine wirksame Hemmung des aktiven Faktors XIII bzw. der Fibrinpolymerisation ein. Das Auftreten der Hemmung ist von dem Verhältnis der GEE-Konzentration und der FSF-Aktivität bei konstantem Fibrinogen als Substrat abhängig. Je geringer deshalb im Testansatz die GEE-Konzentrationen gewählt werden, umso höhere Plasma-FSF-Verdünnungen führen dann noch zur Bildung Harnstoff-unlöslicher Gerinnsel. Daß bei Zusatz der GEE-Verdünnung 1:1 keine Fibringerinnsel, selbst nach einstündiger Inkubation, mehr auftraten, ist wohl weniger als Hemmung der Fibrinmonomer - Aggregation zu verstehen, sondern auf die drastische Veränderung des Ionenmilieus zurückzuführen.

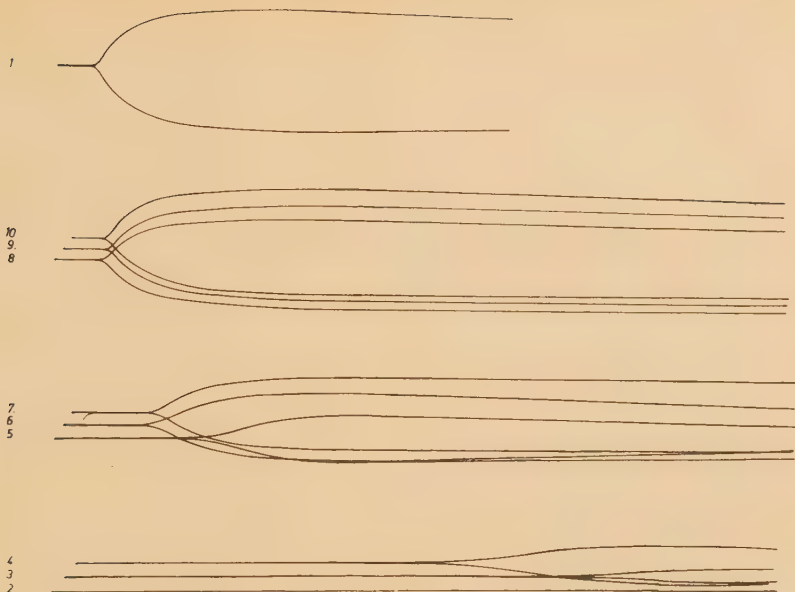


Abb.6: Veränderung der Gerinnbarkeit von Humanblut nach Zusatz von Glycinäthylester (GEE).

TEG 1: Leerwert

TEG 2-10 : Abnehmende Konzentrationen von GEE in der zur Rekalzifizierung benutzten M/40 CaCl_2 -Lösung (Ansatz s.S. 37)

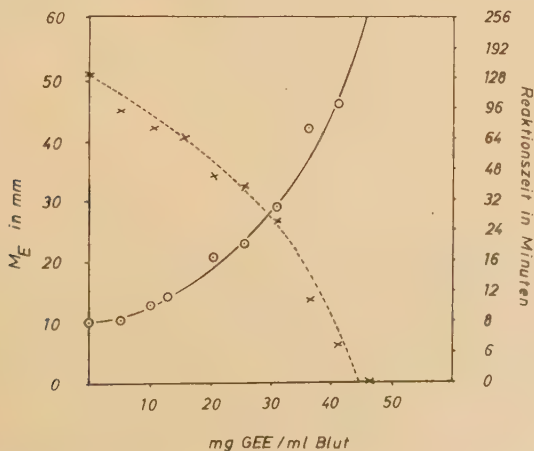


Abb.7: Mittelwertskurven der maximalen Thrombuselastizität (M_E) und der Reaktionszeit (R-Zeit) im Thrombelastogramm bei Zusatz von 10-50 mg GEE/ml Blut in vitro. X---X= M_E ; O---O=R-Zeit.

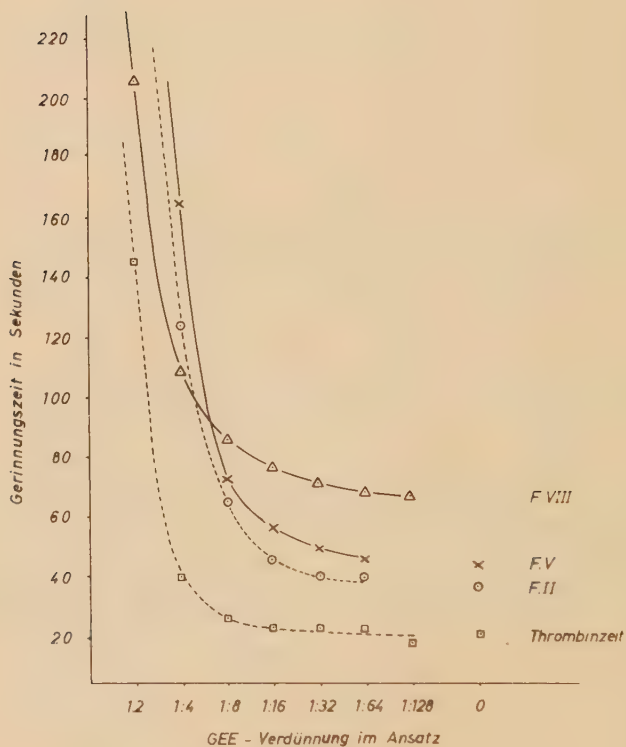


Abb. 8: Beeinflussung der Gerinnungsfaktoren Prothrombin (F.II), Ao-Globulin (F. V), Faktor VIII (AHG) und Thrombin bei Zusatz absteigender GEE-Konzentrationen zum Testansatz, gemessen als Veränderung der Einphasengerinnungszeit.

0 = Nullwert, ohne GEE-Zusatz.

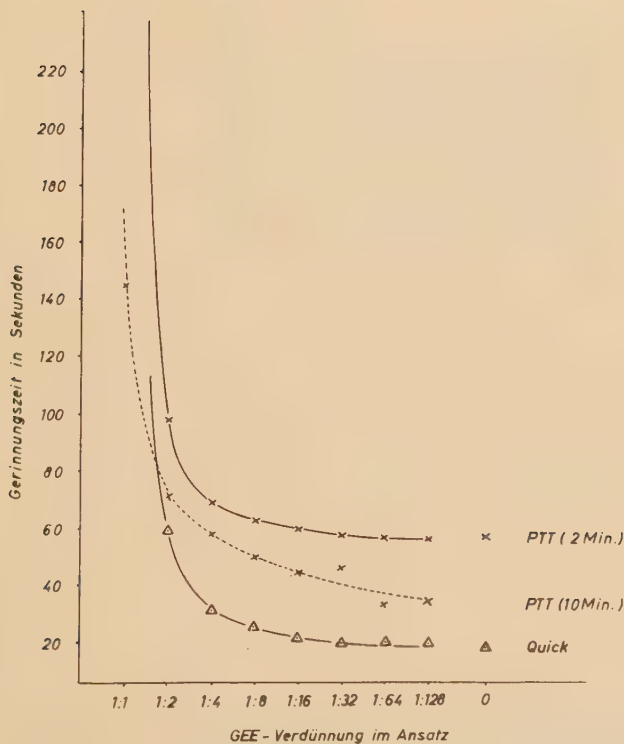


Abb. 9: Beeinflussung der "partiellen Thromboplastinzeit" (PTT), 2 bzw. 10 Minuten Inkubation, und der Thromboplastinzeit (QUICK) bei Zusatz absteigender GEE-Konzentrationen zum Testansatz, gemessen als Veränderung der Einphasengerinnungszeit.

0 = Nullwert, ohne GEE-Zusatz.

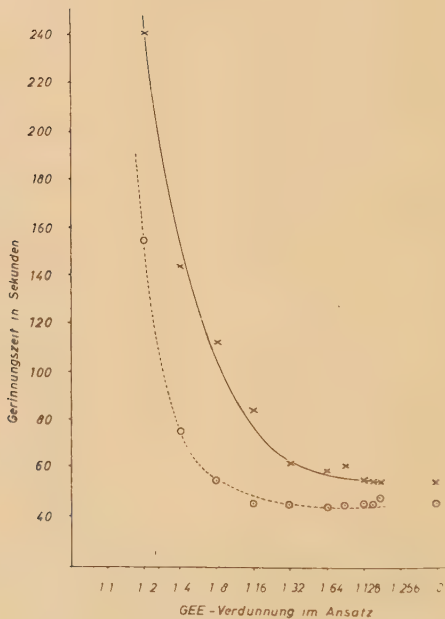


Abb. 10: Mittelwertskurven des Plättchenfaktor-3-Freisetzungstests bei Zusatz abnehmender GEE-Konzentrationen, gemessen als Veränderung der Gerinnungszeit. Die Abszisse enthält die dem Test zugesetzten GEE-Verdünnungsstufen.

- X——X Test mit GEE-Zusatz
 O----O Test mit GEE-Zusatz nach viermaligem Einfrieren und Auftauen des plättchenreichen Plasmas
 O Nullwert, ohne GEE-Zusatz

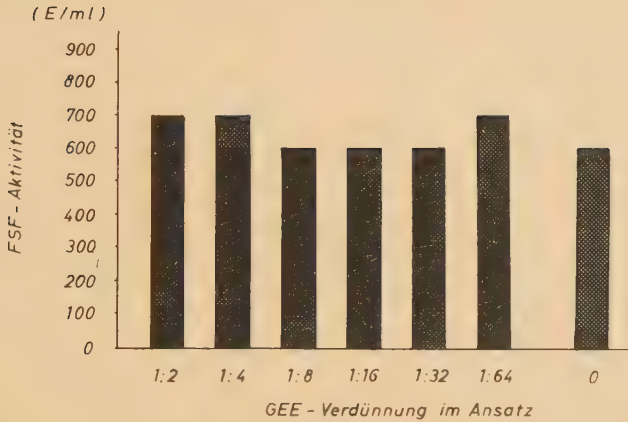


Abb. 11: Einfluß von GEE auf die FSF-Aktivität in vitro: Zusatz des äquivalenten Volumens einer GEE-Verdünnungsreihe (0,5 ml der in der Abszisse aufgetragenen GEE-Verdünnung 1:2 bis 1:64) zu Humanplasma in den Ansatz der Plasmaverdünnung (1:20) des FSF-Tests. 0 = Nullwert, ohne GEE-Zusatz.

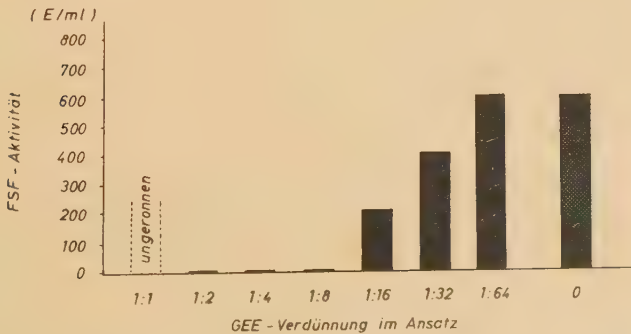


Abb. 12: Einfluß von GEE auf die FSF-Aktivität in vitro: Ersatz der 0,2 ml physiol. Kochsalzlösung im FSF-Test durch ein entsprechendes Volumen einer GEE-Verdünnungsreihe (Verd. 1:1 bis 1:64 in der Abszisse aufgetragen). 0 = Nullwert, ohne GEE-Zusatz

T H R O N B L A S T O G R A M M

M/40 CaCl2-Lösung

Ansatz
Nr. M/4 CaCl2 GEB-Lsg. 0,9 % NaCl-Lsg. R-Zeit Einzelwert M. Einzelwert M. K-Zeit Einzelwert GEB-Konzentration in mg/ml Nativblut

a	1	Well	9	Well	1 M GEB	-	*		0		0		93,4	
b	1	"	9	"	0,5 M GEB	-	*		0		0		46,7	
c	1	"	9	"	0,1 M GEB	-	8'6"		47,5		4'6"		9,3	
1	1	"	-	9	Well	0'20"	8'30"	8'25"	52	49	50,5	3'30"	6'6"	0
2	1	"	9	"	0,5 M GEB	*	*	*	0	0	0	0	0	46,7
3	1	"	8	"		109'	97'30"	103'15"	4	8	6	0	0	41,5
4	1	"	7	"		71'	79'	75'	17	10	13,5	0	0	36,3
5	1	"	6	"		30'30"	30'	30'15"	33	20	26,5	14'	0	31,1
6	1	"	5	"		23'30"	18'	20'45"	35,5	28,5	32	11'	12'48"	25,9
7	1	"	4	"		20'	16'30"	18'15"	37	31,5	34,2	8'30"	10'42"	20,7
8	1	"	3	"		13'30"	10'	11'45"	42	38,5	40,2	7'24"	6'	15,5
9	1	"	2	"		11'	9'18"	10'9"	42,5	41,5	42	6'	6'	10,4
10	1	"	1	"		10'	7'18"	8'24"	44	45,5	44,7	6'30"	5'	5,2

Tab. 9: Einzelergebnisse der Globalen Gerinnungszeit am TEG unter dem Einfluss von Glycinäthylester (GEB).

GERINNUNGSGEZAMT

GEE Verdünnungs- stufe	Faktorenbestimmung				Faktorenbestimmung		PTT	Thromboplastinzeit	
	s. Methodik g) la	s. Methodik g) lb	F. V	F. II	F. V	F. II	Thrombin- zeit	Inkubation 2 Min.	Inkubation ohne
	F. II	F. V	F. V	F. II	F. V	F. II	F. VIII	2 Min.	2 Min.
1: 1	über 4"	über 4"	über 4"	36"	48"	über 5"	über 4"	über 4"	über 4"
1: 2	über 4"	über 4"	über 4"	33"	44,5"	3'25"	2'24"	1'11"	58,6"
1: 4	2'03"	2'44"	2'44"	34"	37,5"	1'47,5"	40"	1'08"	31,2"
1: 8	1'04"	1'12"	1'12"	32"	41,5"	1'25,4"	26,5"	1'02"	31"
1: 16	45,8"	56"	56"	31,2"	36"	1'16"	23"	59,6"	21,3"
1: 32	40,5"	49"	49"	32"	36"	1'11"	23,4"	58"	20,1"
1: 64	40"	46"	46"	29,5"	36"	1'7,4"	23"	57"	19,8"
1:128				30"	36"	1'5,8"	18"	57"	19,0"
Leerwert	37"	43"	43"	34,2"	40,4"	21,6"	51"	58"	18,2"
Normaltest								57"	18,0"
									22,5"

Tab. 10: Übersicht über die Aktivität der Gerinnungsfaktoren II, V, VIII, sowie die Veränderungen der Thrombinzeit, der "partiellen Thromboplastinzeit" (PTT) und der Thromboplastinzeit (Quick), gemessen als Veränderung der Gerinnungszeit nach Zusatz von Glycinäthylester (GEE) in vitro.

PRP	Pat. H.	Pat. OI.	Pat. Ob.	Pat. M.	Pat. J.	Mittelwert
Thromboeyten	275000/mm ³	213000/mm ³	220000/mm ³	276000/mm ³	190000/mm ³	234000/mm ³
5000-Vorwühlungs- stufe in 5 % Kaolin	a. b.	a. b.	a. b.	a. b.	a. b.	a. b.

[illegible]

Tab. 111 Übersicht über die Einzel- und Mittelwerte des Plättchenfaktor-3-Testansatzes unter Zusatz von Glycerinäthylester (GES) zum Testansatz.

B. = Normal test

b. = Test nach viertägigem Einfrieren des plättchenreichen Plasmas (PRP)

* = Cerinungzeit größer als 4 Minuten

Beim Leertest wurde die GEM-Lösung durch reine 5 % Kaolinsuspension ersetzt.

III. Einfluß von Glycinäthylester auf das Gerinnungssystem in vivo:

3. Gruppe: Einfluß einer einmaligen GEE-Infusion auf die Blutgerinnung des Kaninchens.

Die Tiere, die nur eine GEE-Infusion von 20 mg GEE/ml Blut (= 1,4 g GEE/kg Körpergewicht) erhielten, zeigten sich während der einstündigen Infusion völlig unauffällig. Ein Tier (K 31), dem 46 mg GEE/ml Blut infundiert wurde, also die Menge, die in vitro-Versuchen zu einer vollständigen Hemmung der Gerinnung führte (s.Tab.16), starb zwei Stunden nach Versuchsbeginn. Im TEG zeigte sich während der Infusion eine starke Verkürzung der Reaktionszeit mit verminderter maximaler Thrombuselastizität. Nach zwei Stunden, kurz vor dem Tod, trat eine Hypokoagulabilität auf (Tab.13). Die anderen Tiere überlebten die Infusion um mehr als 100 Stunden. Bei der Obduktion war die Milz generell vergrößert und multiple subpleurale Blutungen auf der Lungenoberfläche nachweisbar. Von 6 untersuchten Tieren zeigten 3 geringe Hämorrhagien am Duodenum und Colon, sowie vereinzelt subepicardiale Blutungen. In einem Fall wies die vergrößerte Leber gelbliche Einlagerungen auf. Die Nieren waren makroskopisch unverändert, mikroskopisch ließen sich keine Fibrinniederschläge nachweisen.

Die globale Gerinnungsanalyse (Tab.13, 20, 21) ergab innerhalb 1-2 Stunden nach Infusionsbeginn, soweit untersucht, eine geringgradige Verkürzung der Gerinnungszeit, die sich innerhalb der nächsten 6-24 Stunden normalisierte.

Die maximale Thrombuselastizität zeigte 6 Stunden danach eine ähnliche Verschmälerung, wie sie zum gleichen Zeitpunkt auch nach einmaliger Endotoxingabe beobachtet wurde (Tab.13, 21, 4). Sie normalisierte sich innerhalb 24 Stunden. Der FSF fiel innerhalb von 2 Stunden deutlich ab (Tab.12 und 18). Bei dieser Untersuchungsgruppe zeigte sich ein sonst nicht beobachteter Wiederanstieg der FSF-Aktivität innerhalb von 24 Stunden auf Ausgangswerte, die bei diesem Kollektiv ausgesprochen niedrig lagen. Die Ursache dieses atypischen Befundes liegt wohl in dem niedrigen Ausgangspotential des Faktors XIII selbst, denn die Mittelwerte von 14 GEE-behandelten Tieren weisen nach 24 Stunden noch eine deutlich verminderte Aktivität gegenüber den Ausgangswerten auf (Tab.23). Die gleichzeitige Mitbestimmung des Plasmafibrinogens zeigte innerhalb von 2-6 Stunden einen geringen Abfall, der aber dann von einem fast regelmäßig beobachteten Anstieg dieses Gerinnungsfaktors gefolgt war (Tab.12, 19, Abb.13, 14). Während sich die Aktivität des FSF innerhalb von 120 Stunden, bei Kontrollen in 24-stündigem Abstand, kaum mehr änderte, wobei Schwankungen der Aktivität um 100 Einheiten/ml Plasma in der Streubreite des Tests liegen, so zeigte doch die Fibrinogenbestimmung auch nach 100 Stunden noch deutlich gesteigerte Werte.

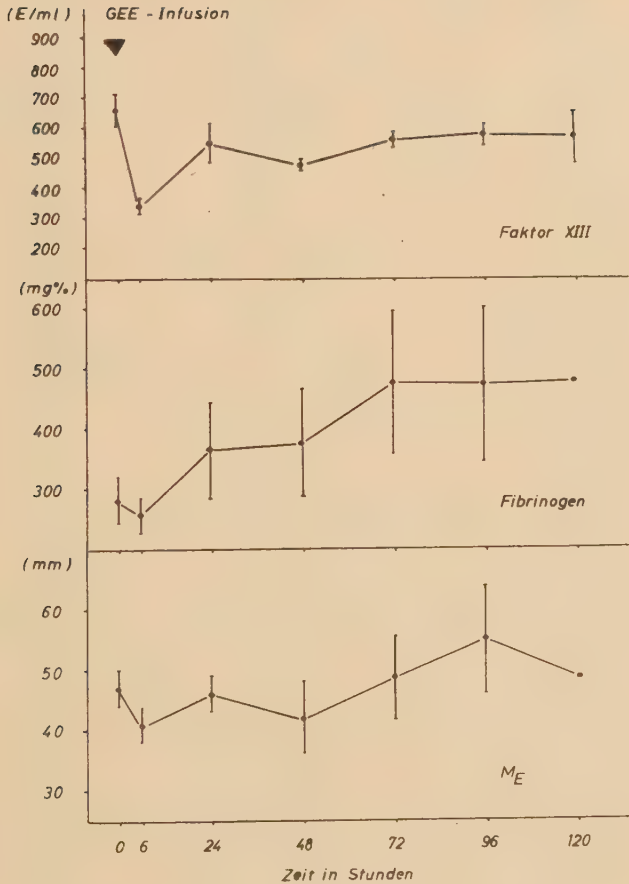


Abb.13: Einfluß einer einmaligen GEE-Infusion (1,4 g GEE/kg Körpergewicht) auf die Blutgerinnung des Kaninchens, gemessen als Veränderung der globalen Gerinnungszeit (M_E), des Fibrinogens und des Fibrinstabilisierenden Faktors.

In der Abbildung ist die Standardabweichung der Mittelwerte der Versuchstiere der Gruppe 3 angegeben.

Gruppe	Nr.	FSF Ausgangswert		FSF nach										Spontanthromb. od. Gerinnet (g) in Std. nach der GEE-Infusion	
		GEE	30 Min.	1 Std.	2 Std.	6 Std.	24 Std.	26 Std.	48 Std.	72 Std.	96 Std.	120 Std.	GEE-Infusion		
3	34	800	+	700	700	400	600			600	700	700		192 (g)	
	35	700	+			300		300	500	500	600			96 (g)	
	36	500	+			300	500		400	500	600	600		168 (g)	
	37	700	+			300	700		500	600	500			150 (g)	
	38	600	+			400	400		500	600	500	400		120 (g)	
Fibrinogen															
3	34	400	+	360	300	280	300	420						192 (g)	
	35	250	+				246		400	350	342	960		96 (g)	
	36	186	+				164	190	180	180	126	166		168 (g)	
	37	342	+				342	560	600	800	740			150 (g)	
	38	230	+				242	296	330	360	360	306		120 (g)	

Tab. 12.1 Übersicht über die Einzelwerte des Fibrinstabilisierenden Faktors (FSF) in E/ml und des Fibrinogen (FG) in mg% nach einmaliger Infusion von Glykothyltester (GEE) in 30 ml 0,9 % NaCl-Lösung. (v = 0,5 ml/Min.)

3

(Min.)

31	6'	+	2'	3'12"	16'30"							2 (s)
34	3'30"	+	4'30"	3'30"	3'	7'30"	6'			4'30"	3'30"	192 (g)
35	5'	+		4'				5'		5'	8'	96 (g)
36	5'	+			4'			6'		7'	5'30"	168 (g)
37	3'	+			3'30"	2'06"		3'30"		5'	4'30"	150 (s)
38	3'	+			3'30"	3'		5'		4'30"	5'	120 (g)

31

34

35

36

37

38

31	46	+	25	25	30							2 (s)
34	52	+	54	50	12	48	52			64	72	192 (g)
35	43	+				34		53		42	57	96 (g)
36	30	+				32	30			29	28	168 (g)
37	42	+				29	48			67	74	150 (s)
38	40	+				34	31			43	45	120 (g)

(H)

M¹²

177

31

34

35

36

37

38

31	35	+	33	33	42							2 (s)
34	33	+	34	33	31	26	27			27	26	192 (g)
35	35	+						31		29	29	96 (g)
36	41	+				33	33			29	26	168 (g)
37	41	+				36	37			33	33	150 (s)
38	33	+				30	31			29	29	120 (g)

Übersicht über die Einzelwerte der R-Zeit und der maximalen Thrombuselastizität (M₁₂), sowie des Hämatokrits, nach einmaliger Infusion von Glycerinäthylester (GER) in 30 ml 0,9 % NaCl-Lösung.

		Thrombo- cyten/mm ³ Ausgangs-		Thrombocyten / mm ³ nach									
Gruppe	Nr.	Wert	GEM	30 Min.	1 Std.	2 Std.	6 Std.	24 Std.	26 Std.	48 Std.	72 Std.	96 Std.	120 Std.
3	34	85000	+	70000	60000	100000	138000	108000			90000		75000
	35	82000	+				48000		72000	60000	50000	58000	
	36	80000	+				50000	68000		56000	58000	54000	
	37		+				78000	70800		60000	56000		
	38	75000	+				89000	60400		50000	60000		
	32	112000	+	96000	48000	58000	59000	26000					
	33	110000	+	62000	66000	44000	56000						
	39	92000	+				55000	80000					
Mittel-													
wert		91000					72000	76000		56500	63000	56000	

Tab. 141 Übersicht über die Veränderungen der Thrombocyten nach einmaliger Infusion von Glykothyltester (GEE) in 30 ml 0,9 % NaCl-Lösung ($v = 0,5$ ml/Min.).

Ausgangswert GEE 6 Std. 24 Std. 48 Std. 72 Std. 96 Std. 120 Std.

F S F (E/ml)	M	660		340	550	475	560	580	566
	S	± 114	+	± 55	± 129	± 43	± 55	± 84	± 153
	S _M	± 51		± 25	± 65	± 19	± 25	± 37	± 88
	n	5		5	4	4	5	5	3
Fibrinogen (mg%)	M	282		259	367	377	478	474	477
	S	± 87	+	± 67	± 160	± 174	± 261	± 287	± 424
	S _M	± 39		± 30	± 80	± 87	± 117	± 128	± 245
	n	5		5	4	4	5	5	3
M _E (mm)	M	47		41	46	42	49	55	49
	S	± 11	+	± 12	± 12	± 12	± 16	± 20	
	S _M	± 3		± 3	± 3	± 6	± 8	± 9	
	n	16		16	14	4	5	5	3
Thrombocyten/ mm	M	91000	+	72000	76000	56500	63000	56000	
Hämatokrit (%)	M	37	+	31	32	31	29	29	26

Tab. 15: Mittelwerte des Fibrinstabilisierenden Faktors (FSF), des Fibrinogens, der maximalen Thrombus-
elastizität (M_E), der Thrombocyten, sowie des Hämatokrits nach einmaliger Infusion von Glycin-
äthylester (GEE) bei den Versuchstieren der Gruppe 3.

M = Mittelwert

S = Standardabweichung

S_M = Standardabweichung des Mittelwertes

n = Zahl der Messungen

Nr.	Tier Gewicht (kg)	GEE mg/ml Blut	Spontanod (s) od. getötet (g) in Std. nach der GEE-Infusion		Niere	makroskopischer Sektionsbefund			sonst. Organe
						Hers	Lunge		
31	3	46	2	(s)	o.B.	re Dilatation	petechiale subpleurale Blutungen	nod unter Krampfen	
34	3,35	20	192	(g)	o.B.	wenige petioh. subepicard. Blutungen	lungengestauung multiple subpleurale Blutungen	leber verfettet, subperitoneale Blutung am Colon	
35	2,5	20	96	(g)	o.B.	lt Hypertrophie	geringe subpleurale Blutungen	Mils gestaut	
36	2,3	20	168	(g)	o.B.	re Herzrohr petechiale Blutungen	Blutungen petechiale Blutungen	eine Blutung am Dünndarm	
37	2,65	20	150	(s)	o.B.			Mils gestaut Colon von Blutungen überz. am Dünndarm	
38	3,15	20	120	(g)	o.B.	geringe Blutungen an den Herzhören	massive Blutungen in unteren Lungenpartien	Mils gestaut	

Tab. 16: Zusammenstellung der infundierten GEE-Mengen (mg GEE/ml Tierblut), sowie des makroskopischen Sektionsbefundes bei den Versuchstieren der Gruppe 3. Bei der Bestimmung der GEE-Dosis wurde 70 ml Blut pro kg Körpergewicht zugrunde gelegt. Die histologische Untersuchung der Nieren ergab keine Pibinablagernngen.

4. Gruppe: Beeinflussung der Blutgerinnung des Kaninchens durch kombinierte intravenöse Verabfolgung von Glycinäthylester und Endotoxin, im Abstand von 24 Stunden.

Um bei der kombinierten Applikation von Endotoxin und GEE eine die Blutgerinnung wirksam beeinflussende Kombination herauszufinden, wurden folgende Applikationsanordnungen verglichen:

a) Bei vorausgehender Injektion von 10-30 Gamma Endotoxin/kg Körpergewicht, gefolgt von einer einstündigen Infusion von 10-20 mg GEE/ml Blut nach 24 Stunden, starben 4 von 5 Tieren während oder unmittelbar nach der Applikation von GEE. Bei allen Tieren fanden sich schwere Hämorrhagien im Bereich der Lungen, multiple subendocardiale Blutungen mit Rechtsherzdilatation. Die Nieren zeigten in zwei Fällen beiderseits Blutungen auf der Oberfläche. Die Milz war zum Teil vergrößert, aber Darmblutungen konnten in keinem Falle nachgewiesen werden (Tab.24). Der frühe Tod der Tiere verhinderte im allgemeinen die Erfassung des GEE-Einflusses auf das mit Endotoxin vorgeschädigte Kaninchen. Die Veränderungen der globalen Gerinnungszeit, des Fibrinogens, sowie der FSF-Aktivität nach der Applikation des Endotoxins entsprachen völlig den Werten, die im ersten Teil der Arbeit nach der präparativen Endotoxininjektion beim SSP beschrieben wurden. Bei einem Tier (K 47) wurde die Endotoxindosis wie auch die GEE-Menge so stark reduziert, daß es 48 Stunden überlebte.

Die anschließende Tötung und Obduktion ergab eine ausgedehnte Herzmuskelnekrose, blasse Schocknieren, sowie ein massives hämorrhagisches Lungenödem. Die Gerinnungsanalysen (Tab.17) zeigten 6 Stunden nach der GEE-Infusion eine Verkürzung der Reaktionszeit, ansteigendes Plasmafibrinogen, sowie eine stark verminderte FSP-Aktivität, die sich auch nach 48 Stunden nicht erholt hatte.

Bei der histologischen Untersuchung der Nieren konnten keine Fibrinablagerungen nachgewiesen werden.

h) Wurde die Versuchsanordnung dahingehend abgewandelt, daß den Kaninchen erst GEE über eine Stunde infundiert wurde, gefolgt von einer einmaligen Injektion von 10-15 Gamma Endotoxin/kg Körpergewicht nach 24 Stunden, so zeigte sich, daß diese Applikationsanordnung, gemessen an der Überlebenszeit der Tiere, besser toleriert wurde. Nur eins von fünf Kaninchen starb spontan nach 50 Stunden, während die anderen nach 50 bzw. 72 Stunden getötet wurden. Bei ihrer Sektion bot sich ein ganz ähnliches Bild wie bei der vorigen Gruppe 4 a. Petichiale subpleurale Blutungen, hämorrhagische Lungeninfarkte, sowie Lungenödem neben blasser Schockniere und vereinzelter subepicardialen Blutungen, ließen sich bei fast allen Tieren nachweisen.

Obwohl nach der GEE-Infusion, wie auch nach der Endotoxingabe, Verbrauchsreaktionen nachweisbar waren, ergab die makroskopische sowie mikroskopische Untersuchung der

Nieren dieser Tiere keinen Hinweis für Fibrindepositionen, die als morphologisches Äquivalent intravaskulärer Gerinnungsprozesse anzusprechen wären.

Trotz der makroskopisch deutlichen hämorrhagischen Diathese waren die Veränderungen der globalen Gerinnungszeit nicht so stark ausgeprägt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 20 und 21 zusammengestellt und zeigen eine geringe Verkürzung der R-Zeit, sowie Verschmälerung der maximalen Amplitude nach 6 Stunden. Die Veränderungen der maximalen Amplitude hatten sich, wie bei den Tieren der im gleichen Sinne behandelten Gruppe 3, nach 24 Stunden weitgehend zurückgebildet. Die dann applizierte Endotoxindosis vermochte jedoch keine so eingreifenden Veränderungen der Blutgerinnung hervorzurufen, wie sie etwa nach der zweiten Endotoxininjektion beim SSP beobachtet werden. Vielmehr ähnelten sowohl der Verlauf der maximalen Thrombuselastizität, aber auch die Veränderungen von Fibrinogen und FSF-Aktivität (Abb.14), den weniger dramatischen Gerinnungsveränderungen nach der präparativen Endotoxininjektion beim SSP. Aus Tabelle 18 ist der Verlauf des Faktors XIII ersichtlich, der hier, 24 Stunden nach der GFE-Infusion, nicht die bei der analog behandelten Gruppe 3 beobachtete Erholung aufweist. Eine Erholung der FSF-Depression nach der dann applizierten Endotoxindosis wurde nur in den Fällen beobachtet, wo die Tiere 72 Stunden überlebten. Besonders auffällig sind die markanten Aktivitätsverluste des Faktors XIII, wenn vor dem Eingriff sehr hohe Ausgangswerte (über 1000 E/ml) bestanden haben. Sie bilden sich nur sehr langsam zurück.

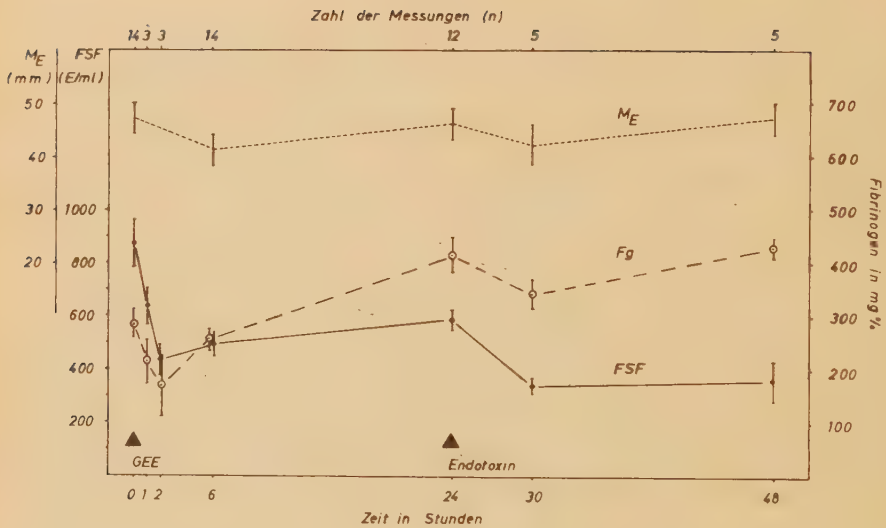


Abb.14: Beeinflussung des Fibrinstabilisierenden Faktors (FSF), des Fibrinogens (Fg) und der maximalen Thrombuselastizität (M_E) durch kombinierte intravenöse Verabfolgung von GEE und Endotoxin nach 24 Stunden. In der Abbildung ist die Standardabweichung der Mittelwerte der Versuchstiere der Gruppe 4b angegeben.

Gruppe	Erinnerungs- faktor	Ausgangs- Nr.	wert	Endo- toxin	GEE				
					6 Std.	24 Std.	25 Std.	26 Std.	27,5 Std. 30 Std. 48 Std.
4a	F S F (E/ml)	42	1600	+	600	700	+	600	500
		47	500	+	200	200	+		200 200
	Fibrinogen (mg%)	42	208	+	157	250	+	225	220 262
		47	293	+	216	235	+		250 350
	R-Zeit (Min.)	42	3'30"	+	6'	6'	+	7'	5'42" 6'
		47	5'30"	+	3'	7'	+		4' 5'
	M _E (mm)	42	48	+	39	53	+	31	32
		47	57	+	53	48	+		49 50
	Hämatokrit (%)	42	32	+	30	31	+	30	31
		47	26	+	26	29	+		28 30

Tab. 17: Übersicht über die Einzelwerte des Fibrinstabilisierenden Faktors (FSF), des Fibrinogens, der Reaktionszeit und maximalen Thrombuselastizität (M_E) im TEG, sowie des Hämatokrits nach einer kombinierten Verabfolgung von Endotoxin (ETU 29-30) und Glycinäthylester (GEE).

Gruppe	Nr.	F S P Ausgangswert		F S P nach		Indo- toxin	F S P nach		Spontan- tod (g) ed. getötet (g) in Std. nach der GEE-Infusion
		(E/ml)	GEE 20 Min.	40 Min.	1 Std.	2 Std.	6 Std.	24 Std.	

4b	50	1300	+				900	900	+	400	200	50 (g)
	51	600	+				500	600	+	300	300	50 (s)
	52	1300	+				700	500	+	300	200	50 (g)
	53	500	+				400	500	+	300	500	72 (g)
	54	1300	+				600	500	+	400	600	72 (g)

32	1300	+	1000	700	700	500	500	500				
33	700	+		600	500	400	400					
39	700	+					600	700				
40	1300	+					600	600				
55	900	+					600	400				
56	900	+					500	900				

Tab. 181 Übersicht über die Einzelwerte des fibrininstabilisierenden Faktors (FSF) in (E/ml) nach einer kombinierten intravenösen Verabfolgung von Glykylthylester (GGE) und Endotoxin (ETU 29-30). Im 2. Teil der Tabelle wurden Tiere zusammengefaßt, denen nur eine GGE-Infusion verabreicht wurde.

Fibrinogen Ausgangs-		Fibrinogen nach		Endo-		Fibrinogen nach		Spontantod (s)			
Gruppe Nr. (mg.)		GLE 20 Min. 40 Min. 1 Std. 2 Std. 6 Std. 24 Std.		toxin		30 Std. 48 Std. 72 Std. GEE-Infusion		ed. getötet (g) in Std. nach der			
	wert										
4b											
50	462	+				300	462	+	275	373	50 (g)
51	377	+				275	475	+	438	462	50 (s)
52	262	+				237	350	+	312	406	50 (g)
53	175	+				162	373	+	337	448	450
54	266	+				287	475	+	345	462	475
32	160	+	166	160	100	150	286				
33	160	+	190	180	120	130					
39	380	+				400	580				
40	320	+				300	500				
55	75	+				188	280				
56	212	+				200	387				

Tab. 19: Übersicht über die Einzelwerte des Plasmafibrinogens (mg %) nach einer kombinierten intravenösen Verabfolgung von Glycinäthylester (GEE) und Endotoxin (ETU 29-30). Im 2. Teil der Tabelle wurden Tiere zusammengefasst, denen nur eine GEE-Infusion verabreicht wurde.

Gruppe Nr. (Nim.)	R-Zeit Ausgangswert	GEE	Reaktionszeit nach				Endo- toxins	Reaktionszeit nach			Spontantod (s) od. getötet (g) im Std. nach der GEE-Infusion
			1 Std.	2 Std.	6 Std.	24 Std.		30 Std.	48 Std.	72 Std.	
4b	50	8'	+		4'	6'30"	+	5'	10'		50 (g)
	51	5'30"	+		5'	4'30"	+	3'30"	7'30"		50 (s)
	52	7'	+		4'	3'	+	4'	7'		50 (g)
	53	4'	+		3'	4'30"	+	6'		6'30"	72 (g)
	54	5'	+		4'30"	6'	+	4'30"		7'	72 (g)
	32	6'	+	6'12"	4'	6'					
	33	6'30"	+	3'30"	5'	6'30"					
	39	5'	+		4'	4'					
	40	4'	+		5'	4'30"					
	55	5'30"	+		3'42"	4'					
	56	4'			3'30"	4'					

Tab. 201 Übersicht über die Einzelwerte der Reaktionszeit im Thrombelastogramm nach einer kombinierten intra-
venösen Verabfolgung von Glycerinphylester (GEE) und Endotoxin (ETU 29-30). Im 2. Teil der Tabelle wur-
den Tiere zusammengefaßt, denen nur eine GEE-Infusion verabreicht wurde.

Gruppe	Nr.	M_E Ausgangs- wert (mm)	M_E nach		Endo- toxin	M_E nach		Spontantod (s) ed. getötet (g) in Std. nach der GEE- Infusion			
			GEE	1 Std.		2 Std.	6 Std.		24 Std.	30 Std.	48 Std.
4b	50	68	+			67	69	+	44	36	50 (g)
	51	58	+			53	58	+	51	48	50 (s)
	52	51	+			50	56	+	46	48	50 (g)
	53	49	+			41	45	+	39	52	68
	54	48	+			33	47	+	28	49	72 (g)

Tab. 21: Übersicht über die Einzelwerte der maximalen Thrombuselastizität (M_E) nach einer kombinierten intravenösen Verabfolgung von Glycinäthylester (GEE) und Endotoxin (ETU 29-30). Im 2. Teil der Tabelle wurden Tiere zusammengefasst, denen nur eine GEE-Infusion verabreicht wurde.

Gruppe	Hämatokrit		Hämatokrit nach				Endotoxin		Hämatokrit nach		Spontan- tod (s)	
	Nr.	(%)	20 Min.	40 Min.	1 Std.	6 Std.	24 Std.	30 Std.	48 Std.	72 Std.	ed. getötet (g)	im Std. nach der GHE-Infusion
4b	50	36	+			35	31	+	27	27	50 (g)	
	51	41	+			38	35	+	35	35	50 (s)	
	52	35	+			33	30	+	30	28	50 (g)	
	53	37	+			35	35	+	35	32	72 (g)	
	54	34	+			34	35	+	35	35	72 (g)	
	32	36	+	36	36	32	32					
	33	43	+		43	37	40					
	39	30	+			31	34					
	40	37	+			35	35					
	55	34	+			32	31					

Tab. 221 Übersicht über den Verlauf des Hämatokrits nach einer kombinierten intravenösen Verabfolgung von Glykothylsüßholzwurzel (GHE) und Endotoxin (ETW 29-30). In 2. Teil der Tabelle wurden Tiere zusammengefaßt, denen nur eine GHE-Infusion verabreicht wurde.

Ausgangs- wert		GEE		1 Std.	2 Std.	6 Std.	24 Std.	Endo- toxin	30 Std.	48 Std.
F S F (E/ml)	M	878		633	433	493	583		340	360
	S	± 337		± 116	± 100	± 173	± 134	+	± 55	± 182
	S _M	± 81	+	± 67	± 58	± 46	± 39		± 25	± 77
	n	14		3	3	14	12		5	5
Fibrinogen (mg%)	M	284		213	167	252	415		341	430
	S	± 98		± 74	± 99	± 78	± 118	+	± 61	± 40
	S _M	± 26	+	± 43	± 57	± 21	± 34		± 27	± 18
	n	14		3	3	14	12		5	5
M _E (mm)	M	47				41	46		42	47
	S	± 11				± 12	± 12	+	± 9	± 6
	S _M	± 3	+			± 3	± 3		± 4	± 3
	n	16				16	14		5	5
Hämatokrit (%)		37	+	36	35	35	35	+	32	31

Tab. 23: Mittelwerte des Fibrinstabilisierenden Faktors (FSF), des Fibrinogens, der maximalen Thrombus-
elastizität (M_E), sowie des Hämatokrits nach einer kombinierten intravenösen Verabfolgung von
Glycinäthylester (GEE) und Endotoxin (ETU 29-30) bei den Versuchstieren der Gruppe 4b. Der
Mittelwert des FSF errechnet sich aus 14 Tieren der Gruppen 3 und 4b, außer Nr. 31, 55 und 56,
da ihnen die gleiche G E-Dosis von 20 mg GEE/ ml Blut appliziert wurde.

M = Mittelwert
S = Standardabweichung
S_M = Standardabweichung des Mittelwertes
n = Zahl der Messungen

Tiergruppe Nr.	Gewicht (kg)	GHE (mg/ml Blut)	MW 29-30 Indotoxin (Gemma/kg)	GHE (mg/ml Blut)	Über- lebens- zeit in (Std.)	Niere	Herz	makroskopischer Sektionsbefund		
								Lunge	sonst.	Organe
4a	42	3,25	30	20	27 $\frac{1}{2}$	o.B.	re Dilat. große subendo-multiple cardiale Blutung subendocard. Blutung multiple subendocard. Blutungen multiple subendocard. Blutungen re Dilat.	Pneumonie petechiale Blutungen multiple Blutungen hämorrh. Infarkte	Milz gestaut	
44	3,2		30	20	25 (s)	o.B.				
45	3		20	10	25 (s)	Blutungen subkapsulär				Leber verfettet
46	2,9		20	40 Gemma 10 MW ⁺ 10	24 $\frac{1}{2}$ Blutungen (s) subkapsulär					Leber verfettet Milz gestaut
47	2,3		10		48 (g) blasse Schockniere	petechiale Blutungen		hämorrh. Lungenödem		
4b	50	3	20	10	50 (g) blasse Schockniere	subendocard. Blutungen		petechiale Blutungen	Blutung am Me- gen, subperiton.	
51	3,1		20	15	50 (s) o.B.	re Dilat.		Blutungen		
52	3		20	10	50 (g) Schockniere			Blutungen		
53	3,9		20	15	72 (g) o.B.					
54	3,8		20	15	72 (g) Nieren blas kleine sub- eploard. Blutungen re	hämorrh. Lungenödem			Milz gestaut Leber lob. quadratus dextr mit Blutungen	

Tab. 24: Zusammenstellung der Indotoxin- und GHE-Gaben, sowie des makroskopischen Sektionsbefundes bei den Versuchstieren der Gruppen 4a und 4b. (s = Spontan Tod; g = getötet)

Kontrollgruppe:

Bei den Tieren, denen lediglich alle 24 Stunden Blut entnommen wurde, zeigte die Gerinnungsanalyse bis 24 Stunden nach Abnahme des Ausgangswertes kaum Veränderungen der FSF-Aktivität, der aber dann ein steiler Anstieg dieses Faktors folgte, bis nach 72 Stunden der Nullwert um nahezu 40% überschritten war. Während der gleichen Zeit stieg auch das Fibrinogen im Plasma an. Die Ergebnisse sind in Tabelle 25 und Abbildung 15 zusammengefaßt.

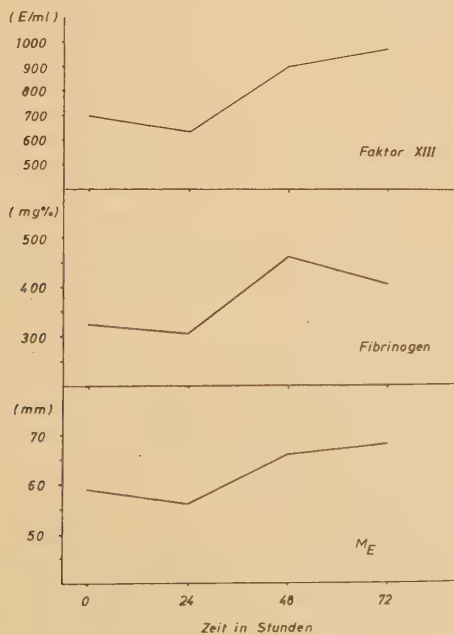


Abb. 15: Mittelwertskurven der Aktivitätsveränderungen des Faktors XIII, des Fibrinogens, sowie der Veränderungen der maximalen Thrombuselastizität (M_E) von 3 Kontrolltieren.

Gerinnungs-		Gruppe faktor					
Nr.		0 Std.	6 Std.	24 Std.	30 Std.	48 Std.	72 Std.
Kontrolle							
FSF (g/ml)	58	600	700	600	500	800	1300
	59	700		600		600	500
	60	800		700		1300	1100
Mittel-		700		633		900	966
wert							
Fibrinogen							
(mg%)	58	187	205	262	287	462	400
	59	300		400		475	412
	60	487		262		450	412
Mittel-		325		308		462	408
wert							
K _B (mm)							
	58	51	37	39	50	62	70
	59	54		56		57	60
	60	72		72		80	74
Mittel-		59		56		66	68
wert							

Tab. 251 Einzel- und Mittelwerte des Fibrinstabilisierenden Faktors (FSF), des Fibrinogens und der maximalen Thrombelastastizität bei den Tieren der Kontrollgruppe.

D. Diskussion:

Die vorstehenden Ergebnisse zeigen, daß beim generalisierten SANARELLI-SHWARTZMAN-Phänomen auch der Fibrinstabilisierende Faktor (FSF) ganz charakteristischen Veränderungen unterworfen ist. Gerinnungsanalytische und histologische Befunde dieses klassischen Tierexperimentes stützen die Annahme, daß eine Verbrauchsreaktion, die gleichermaßen plasmatische wie zelluläre Bestandteile des Gerinnungssystems umschließt, den entscheidenden pathogenetischen Mechanismus darstellt. Sie wäre als eine über das physiologische Maß hinaus gesteigerte "latente Gerinnung" (LASCH et al., 57), also im Sinne einer Umsatzstörung erklärbar, deren Aktivierung zwar bruchstückhaft bekannt ist, aber über deren initialen Auslösungsmechanismus noch keine Einigkeit herrscht.

Das Ausmaß der Störung im Gesamtsystem der Blutgerinnungsfaktoren beim SSP zeigen Gerinnungsanalysen. Nach einer kurzen Phase der Hyperkoagulabilität, die im Tierexperiment häufig noch nach einer Stunde als Verkürzung der Reaktionszeit im Thrombelastogramm, sowie Anstieg der Faktoren II, V und VIII erkennbar ist, folgt eine extreme Hypokoagulabilität (KLEINMAIER et al., 43, HOIGNE, 34, MCKAY et al., 84) aufgrund eines peripheren intravaskulären Verbrauchs des hämostatischen Potentials, dessen morphologisches Äquivalent eine generalisierte Mikrothrombosierung darstellt. In dieser Phase, in der neben einer starken Verminderung von Fibrinogen, Prothrombin, Faktor V und VIII auch eine zunehmende quantitative und qualitative Störung der Thrombocyten

beobachtet wird, tritt, wie unsere Untersuchungen zeigen, auch ein erheblicher Abfall der Aktivität des FSF ein. Eine Aktivitätszunahme dieses Faktors, wie sie bei den oben erwähnten plasmatischen Gerinnungsfaktoren in der initialen Phase der Hyperkoagulabilität nachgewiesen wurde, ergibt sich dabei nicht. Eine solche partielle FSF-Aktivierung durch unterschiedlich hohe intravasal auftretende Thrombinmengen wäre auch durch den von uns benutzten FSF-Test nicht erfaßbar, da ja im Ansatz Thrombinüberschuß und Cystein zu einer vollständigen Aktivierung des gesamten im Plasma verfügbaren FSF führen und damit das FSF-Potential bestimmen. In vitro Untersuchungen von BULOK et al.(11) mit abgestuften Thrombinmengen und unterschiedlicher Inkubationszeit, bei konstantem Faktor XIII und Fibrin-monomer als Substrat, zeigen aber, daß eine solche allmählich sich entwickelnde Aktivitätszunahme bei niedrigen Thrombinkonzentrationen durchaus möglich ist. Die Erreichung der optimal möglichen FSF-Aktivität verschiebt sich aber nach immer früheren Zeitpunkten, wenn nur die Thrombinkonzentration genügend hoch gewählt wurde. Ob ähnliche Reaktionen auch in vivo eine Rolle spielen, kann anhand der hier gewählten Versuchsanordnung nicht entschieden werden.

Der aber schon früh einsetzende FSF-Abfall ist als indirekter Hinweis für intravasal aufgetretenes Thrombin zu verwerten. Hier ergeben sich zwangsläufig Parallelen zu dem Aktivitätsverlust der Faktoren V und VIII (SEEGERS und WARE, 110, 122, RAPAPORT und SCHIFFMANN et al., 100), sowie dem

Untergang der Thromboocyten in einer "viskösen Metamorphose" (LÜSCHER, 80,82), deren Verbrauch in direkter Beziehung zum intravasal aktivierten Thrombin stehen. Damit kommt der erhöhten Aktivierung des Prothrombins zum Thrombin im zirkulierenden Blut eine entscheidende Bedeutung in der Pathogenese der "Verbrauchskoagulopathie" zu, wenngleich dieser Schritt nicht den initialen Auslösungsmechanismus darstellt. Der wenige Stunden nach der ersten und zweiten Endotoxininjektion zu beobachtende Wiederanstieg einzelner Gerinnungsfaktoren hängt mit den diesen Proteinen eigenen schnellen Aufbau- und Umsatzraten zusammen. Demgegenüber besitzt der Faktor XIII eine wesentlich längere Halbwertszeit, die von manchen Autoren mit $4\frac{1}{2}$ - 5 Tagen (IKKALA et al.,38, DUCKERT et al.,21), von anderen mit 7 Tagen (LOSOWSKY et al.,79) angegeben wird. Dadurch findet die fehlende Erholung des FSF sowohl nach der ersten als auch nach der zweiten Endotoxininjektion ihre Erklärung.

Unsere Ergebnisse stimmen nicht ganz überein mit den Beobachtungen von DJALDETTI et al.(20), die ein wesentlich dynamischeres Verhalten des Faktors XIII bei mit *Echis colorata* Gift behandelten Hunden gefunden haben. Einen Verlust der gesamten FSF-Aktivität, wie ihn diese Autoren nach Gabe subletaler Dosen innerhalb von 5 Minuten registrierten, konnten wir bei endotoxinbehandelten Tieren nicht feststellen. Ihre Beobachtung, daß der nach intravenöser Thrombin- oder Thromboplastingabe auftretende völlige FSF-Verlust auf Zu-

gabe von Cystein nicht mehr nachweisbar ist, beweist, daß tatsächlich wesentlich geringere Veränderungen der Faktor XIII-Konzentration stattgefunden haben, als mit dem benutzten Test ermittelt wurde . Auch der bei einem Tier bereits 15 Minuten nach der Applikation des Giftes beobachtete Wiederanstieg des FSF-Titers ist nicht mit unseren Ergebnissen in Einklang zu bringen, die eindeutig zeigen, daß der Wiederanstieg des einmal abgefallenen FSF entsprechend seiner geringen Aufbau- und Umsatzrate wesentlich langsamer erfolgt. Die Ursache der Diskrepanz der vorliegenden Ergebnisse könnte auf den von ihnen benutzten FSF-Test zurückzuführen sein, der eine quantitative Erfassung der FSF-Konzentration im Plasma nicht gestattet. Während diese Autoren als Ursache des FSF-Verlustes eine intravaskuläre Gerinnung, Inaktivierung durch Plasmin oder durch das Gift selbst diskutierten, zeigen unsere Ergebnisse, daß der ausschlaggebende Faktor eine ubiquitär intravasal ablaufende Verbrauchskoagulopathie ist.

Ein Vergleich der Normalwerte von Plasmafibrinogen und Faktor XIII-Aktivität bestätigt nicht die vermutete Beziehung beider Gerinnungsfaktoren (LORAND, 74,75,WEINER, 124). Hohe FSF-Werte können sowohl mit hohem, als auch mit niedrigem Fibrinogenspiegel vergesellschaftet sein. Die Abbildung 4 zeigt deutlich, daß dem dynamischen Verhalten des Fibrinogens in der Kompensationsphase der Verbrauchskoagulopathie ein wesentlich aktiverer Mechanismus zugrunde liegt als dem viel empfindlicheren Verhalten des Faktors XIII.

Während sich Gerinnungsfaktoren mit kurzer Halbwertszeit nur schlecht zur Beurteilung des Ausmaßes der Gerinnungsstörung eignen, haben wir in dem FSF mit seinem über eine begrenzte Zeitspanne quasi stationärem Verhalten einen sehr empfindlichen Indikator für eine Verbrauchsreaktion in der Hand. Von weiterem Vorteil ist aber auch, daß die Methode gegenüber den Bestimmungen der anderen Gerinnungsfaktoren V und VIII, die für eine Verbrauchsreaktion relevant sind, wesentlich empfindlicher ist. Sein starker Aktivitätsverlust, der 6 Stunden nach der zweiten Endotoxininjektion maximal ausgeprägt ist und sich bis zum Tod der Tiere selbst innerhalb von 48 Stunden kaum mehr ändert, trägt aber scheinbar nicht zu der hämorrhagischen Diathese bei, die im allgemeinen bei diesen Tieren beobachtet wird. Es ist bekannt, daß nur geringe Spuren von FSF zur Stabilisierung des Fibrins benötigt werden; 1 mg FSF konnte nach den Untersuchungen von LOEWY et al. (64) 1000 mg unlösliches Fibrin bilden. Auch zeigen Beobachtungen an Patienten mit Faktor XIII-Mangel, daß noch Konzentrationen unter 10% des Normalwertes zu einer normalen Hämostase führen können (DUCKERT et al., 21). Stärker geht der FSF-Mangel in die maximale Amplitude des Thrombelastogramms ein, die sich nach DUCKERT (21) im Falle eines isolierten FSF-Mangels nach anfänglich normaler Hämostase schnell zunehmend vermindert. Die Normalisierungstendenz der maximalen Amplitude im TEG nach beiden Endotoxininjektionen müßte dann durch Kompensationsmechanismen, wie sie zum Beispiel das hohe Plasmafibrinogen darstellen könnte, zustande kommen, die

den manifesten FSF-Mangel verdecken.

Da die Verbrauchskoagulopathie durch ein Stadium erhöhter Gerinnungsneigung mit Aktivitätszunahme einzelner Gerinnungsfaktoren eingeleitet wird, muß der Einsatz von Antikoagulantien in dieser Phase zu einer quantitativ verminderten Verbrauchsreaktion führen bzw. deren Ablauf ganz verhindern können.

Unsere Versuchsanordnung unterschied sich von der klassischen Heparinstudie von GOOD und THOMAS (26), die 30 mg Heparin/kg direkt nach der auslösenden Endotoxininjektion, sowie 2 und 4 Stunden später injizierten und damit die Nierenrindennekrosen beim generalisierten SSP verhindern konnten. Da auch nach der ersten Endotoxingabe geringe Verbrauchsreaktionen auftreten mit Verminderung von Fibrinogen, FSF, sowie anderer plasmatischer und zellulärer Gerinnungsfaktoren, begannen wir schon vor der ersten Injektion mit der Applikation von 5000 Einheiten Heparin/kg und wiederholten dies alle 6 Stunden. Uns interessierte unter diesen Versuchsbedingungen das Verhalten des FSF, der ja zu seiner Aktivierung Thrombin benötigt und bei dessen Blockierung durch Heparin eigentlich keine Veränderung des FSF im Verlaufe des SSP auftreten dürfte .

Die Gerinnungsanalyse zeigte am Beispiel des Fibrinogens, daß das intravasal gebildete Thrombin quantitativ blockiert sein mußte, da nach den einzelnen Endotoxininjektionen kein Fibrinogenabfall eingetreten war. Dafür scheinen schon

geringe Heparinmengen auszureichen, wie die tierexperimentellen Versuche von VINAZZER (121) darlegen. Er zeigte nämlich, daß bei einer einmaligen Thrombininfusion von 200 Einheiten Thrombin/kg 300 Einheiten Heparin/kg genügen, um einen Abfall des Fibrinogens zu verhindern.

Um so interessanter ist das Absinken des FSF während der experimentellen Verbrauchsreaktion am heparinisierten Kaninchen. Sein Verlauf unterscheidet sich kaum von den Veränderungen des FSF beim SSP, wenn man nur Tiere mit ähnlich niedrigem Ausgangs-FSF als Vergleich heranzieht. Eine Erholungstendenz dieses Faktors zwischen den beiden Endotoxininjektionen zeigen sich auch hier nicht, wie in der Gruppe 1. Eine Erklärung für diesen FSF-Abfall am heparinisierten Tier ist dahingehend möglich, daß dieser Faktor eine sehr große Affinität zu Thrombin besitzt, die viel größer sein muß als die des Fibrinogens. Allerdings muß noch offengelassen werden, ob ein Abfall der FSF-Aktivität nicht doch durch eine höhere Dosierung des Heparins hätte verhindert werden können. Diese Fragestellung ist Gegenstand weiterer Untersuchungen.

Diese Befunde verdeutlichen, daß der FSF ein außerordentlich empfindlicher Indikator für intravasal gebildetes Thrombin ist, der schon Aktivitätsveränderungen zeigt, wenn noch keine Konzentrationsänderungen des Plasmafibrinogens zu erkennen sind. Der steile Anstieg des Fibrinogens während der Versuchsdauer ist wohl im Sinne der unspezifischen Vermehrung der Glykoproteide im Rahmen der Reaktion des Organismus

auf das Endotoxin aufzufassen. Der Abfall der Thrombocyten kann durch die Heparinisierung nicht aufgehalten werden.

Die makroskopische wie mikroskopische Untersuchung der Nieren ergab keinen Hinweis für Fibrindepositionen, woraus auf eine Verhinderung der Verbrauchskoagulopathie geschlossen werden kann.

Unter dem Aspekt des FSF-Abfalls bei einer Verbrauchsreaktion erscheint auch die Fibrinolysetherapie mit Streptokinase oder ähnlichen Substanzen sinnvoll, da Gerinnsel, die in Gegenwart von niedriger FSF-Aktivität gebildet werden, viel leichter durch experimentell induzierte Fibrinolyse gelöst werden können (BICKFORD et al.,6, RABINER et al.98). Experimentell läßt sich ein niedriger FSF-Titer durch Verwendung von Fibrinpolymerisationshemmern vom Typ des Glycinamids oder Glycinäthylesters (GEE) imitieren (LAKI et al.,49), die den Angriff des aktiven Faktors XIII am Fibrin-monomer-Molekül kompetitiv hemmen. Damit resultiert eine geringere oder sogar ungenügend ausgebildete Fibrinstabilisierung, so daß das in Gegenwart von Thrombin gebildete Gerinnsel nur unvollkommen seine Aufgabe in der Hämostase erfüllen kann und gegenüber dem Angriff fibrinolytischer Enzyme besonders anfällig ist (BICKFORD et al.,6,RABINER et al.,98,LAKI et al.,49). Dabei muß nicht gleich die Ausbildung sämtlicher kovalenter Bindungen gehemmt sein mit der Bildung Harnstoff-löslicher Gerinnsel, denn auch eine Reduktion dieser vernetzenden Bindungen wirkt sich bei experimentellen in vitro Versuchen günstig auf die Lysezeit bei Zusatz von Streptokinase oder anderen Aktivatoren

der Fibrinolyse aus (LORAND et al.,78). Ein Einsatz solcher Substanzen, die durch Unterbrechung der Fibrinpolymerisation zu instabilen Thromben führen, erschließt ein neues Gebiet von Blutgerinnungshemmern, deren schwerpunktmäßiger Einsatz in der Thromboseprophylaxe und Thrombolyse liegen könnte.

In der Literatur sind eine Anzahl Glycinderivate untersucht worden (LORAND et al.,72,73,76,78, LOEWY et al., 62,68, GORMSEN et al.,27), die unterschiedlich stark in den Polymerisationsprozeß des Fibrins eingreifen, denen aber allen der gleiche oben beschriebene Wirkungsmechanismus zugrunde liegt. Wir wählten für unsere in vitro wie in vivo Studien das GEE, da es einer der stärksten Hemmer dieser Art ist und außerdem bei seinem intravaskulären Metabolismus Substanzen entstehen, Glycin und Äthylalkohol, die im Organismus verstoffwechselt und ausgeschieden werden können. Dabei gingen wir bei unseren in vivo Untersuchungen von der Überlegung aus, daß Thromben, die im Verlaufe des klassischen SSP ubiquitär auftreten, nach vorheriger GEE-Infusion durch endogene Fibrinolyse oder deren exogener Aktivierung schneller beseitigt werden müßten.

Um den isolierten Einfluß von GEE auf das Gerinnungssystem des Kaninchens zu untersuchen, wurde eine einmalige GEE-Dosis infundiert und die Veränderungen des Gerinnungssystems laufend kontrolliert. Die dabei beobachtete Verminderung des Fibrinogens, der Thrombozyten, wie auch des FSF, mit Abnahme der maximalen Amplitude (M_E) ist allerdings weit weniger ausgeprägt als bei der präparativen Endotoxininjektion beim SSP.

Diese Mitreaktion der untersuchten Parameter weist auf eine mehr unspezifische Änderung im Gerinnungssystem hin, allerdings im Sinne einer Verbrauchsreaktion, die durch die Infusion des GEE ausgelöst sein mußte. Appliziert man einem Tier diejenige GEE-Menge, die nach unseren in vitro Versuchen die Gerinnung am Thrombelastographen vollständig hemmt, so tritt noch unter der Infusion der Tod ein. Erst die drastische Reduktion der infundierten Menge auf die Hälfte, die aber an der Gerinnung noch zu registrierbaren Veränderungen führt, verlängert die Überlebenszeit beträchtlich. Die Tötung nach 4-8 Tagen und anschließende Sektion ergab in diesen Fällen eine hämorrhagische Diathese mit Blutungen an Herz, Lunge und Darm. Die alleinige Gabe von GEE führt also bereits zu einer generalisierten Störung des Gerinnungssystems, wobei der spezifische Hemmeffekt der Fibrinpolymerisation kaum mehr von der induzierten Verbrauchsreaktion zu trennen ist. An der Entstehung der schon nach einmaliger GEE-Infusion beobachteten hämorrhagischen Diathese sind neben einer Hemmung der Fibrinpolymerisation, des geringen Gerinnungsdefektes, der an eine Verbrauchsreaktion erinnert, mit Verminderung des Faktors XIII und der Blutplättchen, sicher auch toxische und osmotische Einflüsse zu diskutieren. Die graduelle Beteiligung der einzelnen Parameter bleibt unklar, denn die Verminderung der einzelnen Gerinnungsfaktoren ist nicht so ausgeprägt, um die beobachtete hämorrhagische Diathese zu erklären.

Wir untersuchten deshalb den in vitro Einfluß von

GEE auf die verschiedenen Gerinnungsfaktoren. Dabei ließ sich keine isolierte Hemmung eines einzelnen Faktors nachweisen. Der stabilisierende Effekt von GEE auf den Faktor VIII, den kürzlich KISKER (41) bei der Untersuchung der Thrombinwirkung auf dieses Gerinnungsprotein bei gleichzeitiger Hemmung der Fibrinpolymerisation durch GEE beobachtete, zeigte sich in unserer Versuchsanordnung nicht. Die Kurven der Einphasengerinnungszeit bei der Bestimmung von Prothrombin, Faktor V und VIII, Thrombinzeit und Thromboplastinzeit (QUICK) laufen praktisch parallel, so daß der hemmende Einfluß von GEE in der von Thrombin induzierten Fibrinogen-Fibrin-Umwandlung wirksam wird. Bei der Bestimmung der "partiellen Thromboplastinzeit" (PTT) unter GEE-Einfluß und verlängerter Inkubationszeit (2 und 10 Minuten) erfolgt eine Verkürzung der Gerinnungszeit (Abb. 9). Dies ist wohl so zu deuten, daß bei längerer Inkubation die Esteraseaktivität im Plasma das GEE aufspaltet und dieses somit seine Hemmwirkung in dieser Phase verliert.

GEE hemmt aber nur die Phase der Stabilisierung des Fibringerinnsels (LORAND ,78), nicht aber die Aggregation der Fibrin-monomer Moleküle. Daraus muß man konsequenterweise eine normale Gerinnungszeit unter GEE-Einfluß ableiten, die aber bei unseren in vitro Versuchen nicht beobachtet wurde. Wir vermuten deshalb, daß der Hemmeffekt auf die Aggregation der Fibrin-monomer Moleküle, der zu der gemessenen Verlängerung der Einphasengerinnungszeit führt, ein unspezifischer Einfluß hoher GEE-Dosen auf das Gerinnungssystem ist. Daß eine

Hemmung der Fibrinstabilisierung tatsächlich eintritt, geht aus dem modifizierten FSF-Test hervor, der unter GEE-Zusatz abgestufter Konzentration eine Gerinnselbildung zeigt. Die Gerinnsel sind so lange in Harnstoff löslich, wie GEE gegenüber FSF im Überschuß vorhanden ist. Dieser Test zeigt aber auch, daß ab einer bestimmten GEE-Konzentration im Ansatz keine Gerinnselbildung mehr eintritt. Ob dies auf eine Hemmung der proteolytischen Aktivität des Thrombins oder eine Störung der Fibrinmonomer-Aggregation zurückzuführen ist, wurde nicht ermittelt. Vermutlich ist das veränderte Ionenmilieu für diesen Effekt verantwortlich.

Von besonderem Interesse war die Beobachtung, daß GEE in geringen Konzentrationen im Plättchenfaktor-3-Freisetzungstest oft, aber nicht regelmäßig reproduzierbar, zu einer vermehrten Freisetzung dieses Plättchenlipids führt. Es wäre denkbar, daß in diesen Fällen das GEE mit dem auf der Thrombocytenoberfläche absorbierten Fibrinogen interferiert und dadurch zu einer Permeabilitätsveränderung der Thrombocytengrenzmembran führt. Die Freisetzung von Plättchenfaktor-3 war aber in den beobachteten Fällen nicht vollständig, so daß nach viermaligem Einfrieren eine weitere Verkürzung der Gerinnungszeit beobachtet wurde. Eine solche vermehrte Freisetzung dieses Thrombocytenfaktors würde natürlich den Auslösungsmechanismus der beobachteten Verbrauchskoagulopathie weitgehend klären.

Es wurde schließlich in weiteren Tierexperimenten untersucht, inwieweit eine kombinierte Verabfolgung von GEE

und Endotoxin die Blutgerinnung des Kaninchens beeinflusst. Dabei konnten wir zeigen, daß bei vorausgehender GEE-Infusion und folgender Endotoxinapplikation nach 24 Stunden, jeweils 6 Stunden nach der verabreichten Substanz, geringgradige Verbrauchsreaktionen auftraten, die durch eine Verminderung von Fibrinogen, FSF, sowie der maximalen Amplitude (M_E) gekennzeichnet waren, ohne daß aber bei dieser Versuchsanordnung die vorausgehende GEE-Gabe das Kaninchen für das generalisierte SSP sensibilisierte, wie es zum Beispiel nach Cortisongabe oder RES-Blockade beobachtet wird. Die histologische Untersuchung der Nieren erbrachte ebenfalls keine Hinweise auf Fibrindepositionen. Nach beiden Infusionen laufen die Gerinnungsstörungen scheinbar unbeeinflusst voneinander ab. Hier bestätigte sich unsere Beobachtung, daß nach Abfall der Faktor XIII-Aktivität im Plasma nur sehr langsam ein Wiederanstieg erfolgt, was auf seine langsame Aufbau- und Umsatzrate zurückgeführt wurde.

Änderten wir aber die Applikationsanordnung dahingehend, daß zuerst Endotoxin und in 24-stündigem Abstand GEE infundiert wurde, so zeigte sich, gemessen an der Überlebenszeit, eine viel schlechtere Verträglichkeit. Infolge des frühen Todes der Tiere, meist noch während der einstündigen GEE-Infusion, können keine Aussagen über den Einfluß dieser Substanz auf das endotoxingeschädigte Kaninchen gemacht werden. Die Sektion der Tiere beider Untersuchungsgruppen zeigte eine ausgeprägte hämorrhagische Diathese mit Blutungen in

der Lunge und am Herzen, weniger am Darm, wobei bei der Gruppe mit initialer Endotoxingabe (Endotoxin + GEE) Blutungen auf der Nierenoberfläche, bei der anderen Gruppe (GEE + Endotoxin) aber eine blasse Schockniere im Vordergrund stand. Der frühe Tod der Tiere, die zuerst mit Endotoxin behandelt wurden, ist wohl bis zu einem gewissen Grade auf toxische Nebenwirkungen des GEE oder seiner Abbauprodukte zurückzuführen, die von der endotoxingeschädigten Leber nicht mehr quantitativ verstoffwechselt bzw. entgiftet werden konnten.

Die Ergebnisse zeigen aber, daß aufgrund der durch GEE ausgelösten Gerinnungsänderung in vivo, die im Sinne einer Verbrauchsreaktion interpretiert werden kann, die Endotoxinwirkung nicht gemildert, sondern eher potenziert wird. Im Zusammenhang mit den im Tierversuch beobachteten Nebenwirkungen ist die Anwendbarkeit dieser Substanz dahingehend limitiert, daß die für eine wirksame Beeinflussung der Gerinnung notwendigen Dosen so hoch sind, daß eine beträchtliche Verkürzung der Überlebenszeit resultiert.

Bei der Gruppe 4a (Endotoxin + GEE) findet sich zwar nach der GEE-Infusion eine Verbrauchsreaktion bei zwei Tieren, die länger überlebt hatten, jedoch keinerlei Hinweise auf Fibrinpräzipitate, die als morphologisches Äquivalent eines intravaskulären Gerinnungsprozesses anzusprechen wären. Demnach bewirkt GEE bei dieser Versuchsanordnung keine Auslösung des typischen SSP.

E. Zusammenfassung:

Im Rahmen dieser Untersuchungen wurde das Verhalten des Faktors XIII bei der experimentellen Verbrauchskoagulopathie am Modell des SSP beim Kaninchen verfolgt. Dabei zeigte sich bei quantitativer Bestimmung des Faktors XIII ein deutlicher Aktivitätsverlust bereits nach der ersten Endotoxingabe innerhalb von einer Stunde, die durch die zweite Endotoxingabe noch verstärkt wurde. Darüber hinaus konnte bestätigt werden, daß das Verhalten der Faktor XIII-Aktivität als empfindlicher Indikator für eine Verbrauchskoagulopathie anzusehen ist. Versuche zum SSP am heparinisierten Tier ergaben keine Verminderung des Abfalls des Faktors XIII, wobei morphologisch an der Niere kein Hinweis für eine abgelaufene Verbrauchsreaktion vorlag. Zur Frage der Beeinflussung der Faktor XIII-Aktivität in vivo im Verlaufe intravaskulärer Gerinnungsprozesse wurde an einem ähnlichen Modell die Wirkung von Glycinäthylester (GEE) untersucht. Dosisabhängig kommt es zwar zu einer deutlichen Beeinflussung des Gerinnungssystems, die auch in vitro nachgewiesen werden konnte und aufgrund der tierexperimentellen Ergebnisse ebenfalls im Sinne einer Umsatzstörung interpretiert werden muß; GEE ist jedoch nicht in der Lage, im Zusammenhang mit der Endotoxininjektion als präparative oder auslösende Substanz zu fungieren.

F. Literatur:

- 1) ASTRUP, T.: The hemostatic balance
Thromb.Diath.Haemorrh.2,347 (1958)
- 2) BARKAN, G., Zur Frage der Reversibilität der
GASPAR, A.: Fibringerinnung
Biochem.Ztschr.139,291 (1923)
- 3) BRESON, P.B.: Effect of reticuloendothelial
blockade on immunity to the
Shwartzman phenomen, Proc.Soc.
exp.Biol.Med. (N.Y.) 64,146 (1947)
- 4) BENACERRAF, B., Effect of bacterial endotoxins on the
SEBESTYEN, M.M.: reticuloendothelial system
Fed.Proc. 16, 860 (1957)
- 5) BERGNA, L. J.: A simple methode for the assey of
factor VIII
Blood, 15, 637 (1960)
- 6) BICKFORD, A.F., Jr. Fibrinolysis as related to the urea
SOKOLOW, M.: solubility of fibrin
Thromb. Diath.Haemorrh.,5, 480(1961)
- 7) BOHLE, A., Über die Natur des sog.Fibrinoids
KRECKE, H.-J., bei der generalisierten Shwartzman-
MILLER, F., schen Reaktion
SITTE, H.: In: Immunopathologie, I.Internat.
Symposion, Basel/Seelisberg 1958,
Schwabe,Basel 1959, S.339
- 8) BOUNAMEAUX, Y.: Dosages des facteurs de coagulation
contenus dans l'atmosphère plasma-
tique de plaquettes humaines
Rev.franç. Etud.clin.biol. 2,52
(1957)

- 9) BRUNSON, I.G., Morphological changes in rabbits
DAVIS, R.L.: following the intravenous administra-
THOMAS, L.: tion of meningococcal toxin, III. The
 effects produced by endotoxin in
 association with certain high weight
 acid polymers.
 Amer. J.Path. 31, 669 (1955)
- 10) BRUNSON, I.G., Morphological changes in rabbits
THOMAS, L., following the intravenous administra-
GAMBLE, C.N.: tion of meningococcal toxin, II. Two
 appropriately spaced injections: The
 Role of Fibrinoid in the generalized
 Shwartzman Reaction.
 Amer. J.Path. 31, 655 (1955)
- 11) BULUK, K., Conversion of fibrin to desmofibrin.
JANUSKO, T., Nature (Lond.) 191, 1093 (1961)
OLBROMSKI, J.:
- 12) BULUK, K., Desmofibrin formation and the activity
OLBROMSKI, J., of fibrin-stabilizing factor (FSF)
JANUSZKO, T., during the cleavage of its SH groups
ZUCH, A.: by thrombin.
 Thromb. Diath. Haemorrh. 16, 51 (1966)
- 13) CHANDRASEKHAR, N., Fibrin clot formation and the release
LAKI, K.: of carbohydrate.
 Biochim. Biophys. Acta 93, 392 (1964)
- 14) CHANDRASEKHAR, N., The mode of action of the Laki-Lorand-
OSBAHR, A., Factor in the clotting of fibrinogen.
LAKI, K.: Biochim. Biophys. Res Commun.
 15, 182 (1964)
- 15) CHANDRASEKHAR, N. Role of sialic acid in fibrinogen.
WARREN, L., Biochim. Biophys. Acta 63, 337 (1962)
OSBAHR, A.,
LAKI, K.:

- 16) CLUFF, L. E., The inhibition of the local Schwartzman
 BERTHRONG, M.: reaction by heparin.
 Bull. Johns Hopkins Hosp. 92, 353 (1953)
- 17) CONDIE, R. M., Reversal of lesions of the generalized
 HONG, C. Y., Schwartzman phenomenon by treatment of
 GOOD, R. A.: rabbits with streptokinase.
 J. Lab.clin. Med. 50, 803 (1957)
- 18) DAVIE, E.W., Waterfall sequence for intrinsic blood
 RATNOFF, O.D.: clotting.
 Sciende 145, 1310 (1964)
- 19) DAVIS, R.B. Immediate effects of intravenous endo-
 MEEKER, R., toxin on serotonin concentrations and
 McQUARRIE, D.G.: blood platelets.
 Circulat. Res. 8, 234 (1960)
- 20) DJALDETTI, M., In vivo and in vitro inactivation of
 COHEN, J., fibrin stabilizing factor by Echis
 JOSHUA, H., colorata venom.
 De VRIES, A.: Suppl.20, Thromb. Diath. Haemorrh.
 F.K. Schattauerverlag (1966)
- 21) DUCKERT, F., A hitherto undiscrised congenital
 JUNG, E., haemorrhagic diatheses probably due to
 SHMERLING, D.H.: fibrin stabilizing factor deficiency.
 Thromb. Diath. Harmorrh. 5, 179 (1960)
- 22) FEISSLY, R., Microscopie par contrastes de phases,
 LÜDIN. A.: applications à l'hématologie.
 Rev. Hémat. (Paris) 4, 481 (1949)
- 23) FERRY, J.D., The conversion of fibrinogen to fibrin.
 MILLER, M., VII. Rigidity and stress relaxation of
 SHUMANN, S.: fibrin clots, effect of calcium.
 Arch.Biochem. 34, 424 (1951)
- 24) FISHER. S., Factor 13 deficiency with severe
 RIKOVER, M., haemorrhagic diathesis.
 NOAR, S.: Blood, 28, 34 (1966)

- 25) FULLERTON, H.W., Relationship of alimentary lipaemia
DAVIE, W.J.A., to blood coagulability.
ANASTASOPOULOS, G.: Brit. Med. J. II, 250 (1953)
- 26) GOOD, R.A., Inhibition by heparin of the local
THOMAS, L.: and generalized Schwartzman reactions.
J. exp. Med. 97, 871 (1953)
- 27) GORMSEN, J., The effect of sulphydril inhibitors
SIVERTSEN, U.: and glycine derivatives on fibrin
polymerisation and the physical
strength of fibrin in plasma.
Thromb. Diath. Haemorrh. 11, 454 (1964)
- 28) HAMPTON, J.W., Defectiv fibrinase activity in two
BIRD, R.M., brothers.
HAMMARSTEN, D.M.: J. Lab. a. clin. Med. 65, 469 (1965)
- 29) HARDISTY, R.M., The kaolin clotting time of platelet-
HUTTON, R.A.: rich plasma: A test of platelet factor-
3 availability.
Brit. J. Haemat. 11, 258 (1965)
- 30) HARDISTY, R.M., A one-stage factor VIII (antihaemo-
MacPHERSON, J.C.: philic globulin) assay, its use
on venous and capillary plasma.
Thromb. Diath. Haemorrh. 7, 215 (1962)
- 31) HARDISTY, R.M., The role of Hageman factor in the
MARGOLIS, J.: initiation of blood coagulation.
Brit. J. Haemat. 5, 203 (1959)
- 32) HARTERT, H.: Blutgerinnungsstudien mit der Thromb-
elastographie, einem neuen Unter-
suchungsverfahren.
Klin. Wschr. 26, 577 (1948)
- 33) HEENE, D.L.: Quantitative estimation of factor
XIII-activity (in Vorbereitung).

- 34) HOIGNE, R.: Über die Veränderungen von Blutgerinnungs-
faktoren, Thrombocyten und Leukocyten
im anaphylaktischen Schock, beim ARTHUS-
Phänomen und beim Sanarelli-Schwartzman-
Phänomen.
Inaug.-Dissertation, Zürich 1951
- 35) HOROWITZ, H.I., Effects of bacterial endotoxin on rabbit
Des PREZ, R.M., platelets. II. Enhancement of platelets
HOOK, E.W.: factor-3 activity in vitro and in vivo.
J.exp.Med. 116, 619 (1962)
- 36) HUTH, K., Experimentelle Verbrauchskoagulopathie
BLUMENTHAL, J., nach Carragenin.
MITTERMAYER, C., Verhdl.Deutsch.Gesellsch.inn.Med.
LASCH, H.-G.: 72, 287 (1966)
- 37) HUTH, K., Experimentelle Verbrauchskoagulopathie
SCHOENBORN, W., nach intravenöser Zufuhr von Fett und
KNORPP, K.: Endotoxin.
Thromb. Diath. Haemorrh. 17, 129 (1967)
- 38) IKKALA, E., Transfusion therapy in factor XIII
MYLLYLÄ, G., (FSF) deficiency.
NEVANLINNA, H.R.: Scandinv.J.Haemat., 1, 308 (1964)
- 39) IKKALA, E., Congenital deficiency of fibrin stabi-
NEVANLINNA, H.R.: lizing factor.
Thromb. Diath. Haemorrh. 7, 567 (1962)
- 40) JUNG, E.G., Wirkung von Plasmin (Fibrinolysin) auf
DUCKERT, F.: die Gerinnungsfaktoren.
Schw.med.Wschr. 90, 1239 (1960)
- 41) KISKER, C.T.: Effects of Thrombin on factor VIII-
activity: Stabilization of factor VIII
by glycine ethyl ester.
Thromb. Diath. Haemorrh. 17, 381 (1967)
- 42) KISSELBACH, Th.H., Fibrin stabilizing factor: A thrombin-
WAGNER, R.H.: labile platelet protein.
Amer.J.Physiol. 211, 1472 (1965)

- 53) LASCH, H.-G.: Wechselwirkungen von Gefäßwand und Blutströmung.
Verhdl.Dtsch.Ges.Kreislauff. 1963, Steinkopff, Darmstadt.
- 54) LASCH, H.-G., Verbrauchs-koagulopathien (Pathogenese
KRECKE, H.J., und Therapie).
RODRIGUEZ-ERDMANN, F., Folia Haemat. (N.F. 6, 325 (1961)
SESSNER, H.H.,
SCHÜTTERLE, G.:
- 55) LASCH, H.-G., Quantitative und qualitative Veränderungen
RODRIGUEZ-ERDMANN, F., der Thrombocyten beim Sanarelli-
KRECKE, H.J.: Schwartzman-Phänomen.
Verh.Dtsch.Ges.Inn.Med. 66, 992 (1960)
- 56) LASCH, H.-G., Über den Bildungsmechanismus der Ge-
ROKA, L.: rinnungsfaktoren Prothrombin und
Faktor VII.
Klin.Wschr. 32, 460 (1954)
- 57) LASCH, H.-G., Zur Prothrombinbildung in der Leber.
ROKA, L.: Z. physiol.Chemie. 294, 30 (1953)
- 58) LEE, L.: Reticuloendothelial clearance of cir-
culating fibrin in the pathogenesis
of the generalized Schwartzman reaction.
J.Exp. Med. 115, 1065 (1962)
- 59) LEE, L., The role of reticuloendothelial system
PROSE, P.H., in diffuse low grade intravascular
COHEN, M.H.: coagulation.
In: Diffuse intravascular clotting
Suppl. 20 Thromb.Diath.Haemorrh.
F.K. Schattauer (1966)
- 60) LEWIS, J.H., An aquired inhibitor to coagulation
SZETO, I.L.F., factor XIII. (Abstract.)
ELLIS, L.D., Fed.Proc. 26, 488 (1967)
BAYER, W.L.:

- 61) LOELIGER, E.A.: On the turnover of factors II, VII, IX and X under pathological conditions.
Thromb. Diath. Haemorrh. 13 (Suppl.)
195 (1964)
- 62) LOEWY, A.G., A transamidase mechanism for in-
DAHLBERG, J.E., soluble fibrin formation.
DORWART, W.V., Biochem.Biophys.Res Commun.
WEBER, M.J., 15, 177 (1964)
EISELE, J.A.:
- 63) LOEWY, A.G., Fibrinase II: Some physical
DAHLBERG, A., properties.
KRIEL, R., J.Biol.Chem. 236, 2635 (1961)
WOLFINGER, H.L.:
- 64) LOEWY, A.G., Fibrinase III: Some enzymatic
DUNATHAN, K., properties.
GALANT, J.A., J.Biol.Chem. 236, 2644 (1961)
GARDNER, B.:
- 65) LOEWY, A.G., Studies on the formation of urea-
EDSALL, J.T.: insoluble fibrin.
J.Biol.Chem. 211, 829 (1954)
- 66) LOEWY, A.G., Fibrinase IV: Effect on fibrin
GALLANT, J.A., solubility,
DUNATHAN, K., J.Biol.Chem. 236, 2648 (1961)
- 67) LOEWY, A.G., Fibrinase I: Purification of sub-
DUNATHAN, K., strate and enzyme.
KRIEL, R., J.Biol.Chem. 236, 2625 (1961)
WOLFINGER, H.L.Jr.:
- 68) LOEWY, A.G., Transamidase activity of the enzyme
MATATCIC, C., responsible for insoluble fibrin
DARNELL, J.H.: formation.
Arch.Biochem.Biophys. 113, 435 (1966)

- 69) LORAND, L., Doctoral Thesis
 Leads University,)1951)
- 70) LORAND, L.: Fibrin clots.
 Nature, 166, 694 (1950)
- 71) LORAND, L.: Physiological roles of fibrinogen and
 fibrin.
 Fed. Proc. 24, 784 (1965)
- 72) LORAND, L., Accelerated lysis of blood clots.
 JACOBSEN, A.: Nature, 195, 911 (1962)
- 73) LORAND, L.; Specific inhibitors and the chemistry
 JACOBSEN, A.: of fibrin polymerisation.
 Biochem. 3, 1939 (1964)
- 74) LORAND, L., Studies on the polymerisation of fibrin.
 JACOBSEN, A.: The role of the globulin: Fibrin
 stabilizing factor.
 J.Biol.Chem. 230, 421, (1958)
- 75) LORAND, L., Biogenesis of protein fibers, the
 JACOBSEN, A., clotting of blood plasma.
 FUCHS, L.E.: Sulfur in Proteins.Proc.Symp. Held at
 Falmouth, Mass., 1958 p. 109
- 76) LORAND, L., Transpeptidation mechanism in blood
 KONISHI, K., blood clotting.
 JACOBSEN, A.: Nature, 194, 1148 (1962)
- 77) LORAND, L., γ -Glutamyl- ϵ -lysine in the cross -
 ONG, H.H., linking of fibrin. (Abstract.)
 RULE, N.G., Fed.Proc. 26, 538 (1967)
 LIPINSKI, B.,
 DOWNEY, J.:

- 78) LORAND, J., Inhibitors of Fibrin cross-linking
PILKINGTON, T.R.E., relevance for thrombolysis.
LORAND, L.: Nature, 210, 1273 (1966)
- 79) LOSOWSKY, M.S. Congenital deficiency of fibrin
HALL, R., stabilizing factor, a report of three
GOLDIE, W.: unrelated cases.
Lancett, 2, 156 (1965)
- 80) LÜSCHER, E.F.: Die physiologische Bedeutung der
Thrombocyten.
Schw.med.Wschr. 86, 345 (1956)
- 81) LÜSCHER, E.F.: Ein Fibrinstabilisierender Faktor
aus Thrombocyten.
Schw.med.Wschr. 87, 1220 (1957)
- 82) LÜSCHER, E.F.: Viscous metamorphosis of blood plate-
lets and clot retraction.
Vox.sang. (Basel), 1, 133 (1956)
- 83) MacFARLANE, R.G.: The basis of the cascade hypothesis
of blood clotting.
Thromb. Diath. Haemorrh. 15, 591 (1966)
- 84) McKAY, D.G., Alterations in the blood coagulation
SHAPIRO, S.S.: system induced by bacterial endotoxin.
I. in vivo (generalized Shwartzman
reaction)
J. Exp.Med. 107, 353 (1958)
- 85) McKAY, D.G., Alterations in the blood coagulation
SHAPIRO, S.S., system induced by bacterial endotoxin.
SHANBERGER: II. in vitro
J. Exp. Med., 107, 369 (1958)
- 86) MENACHE, D.: The turn over rate of the coagulation
factors II, VII and IX under normal
metabolic conditions.
Thromb. Diath. Haemorrh. 13 (Suppl.)
187 (1964)

- 87) MOORE, R.D., A polysaccharide component in the
SCHOENBERG, M.D.: vascular lesion of the thrombotic
thrombocytopenic purpura
Blood 15, 511 (1960)
- 88) MOESSON, W., Biochemical and chromatographic
FINLAYSON, J.S.: studies of certain activities asso-
ciated with human fibrinogen prepa-
rations.
J. clin. Invest. 42, 747 (1963)
- 89) MÜLLER-BERGHAUS, G.: Experimentelle Untersuchungen zur
Bedeutung von intravasaler Gerinnung,
Gefäßwandveränderungen und Blutlipiden
in der Pathogenese des Sanarelli-
Schwartzman-Phänomens.
Inaug. Diss. Heidelberg (1964)
- 90) MÜLLER-BERGHAUS, G., Blutlipide und intravasale Gerinnung
HUTH, K., in der Pathogenese des Sanarelli-
KRECKE, H.-J., Schwartzman-Phänomens.
LASCH, H.-G.: Schw. Med. Wschr. 94, 1519 (1964)
- 91) MÜLLER-BERGHAUS, G., Thrombelastographische Untersuchungen
KRECKE, H.-J., zum Gerinnselaufbau beim Sanarelli-
LASCH, H.-G.: Schwartzman-Phänomen.
Klin. Wschr. Jg. 41:216 (1963)
- 92) MÜNCH, R.: Inaug. Diss. (Gießen): in Vorbereitung
- 93) NEUHOF, H.: In Vorbereitung
- 94) NIEWIAROWSKI, S., Un nouvel antikoagulant dérivé du
KOWALSKI, E.: fibrinogène.
Rev. Hémat. 13, 320 (1958)
- 95) NIEWIAROWSKI, S., Influence of fibrinogen derived anti-
KOWALSKI, E.: thrombin (Antithrombin VI) on blood
STACHURIKA, J.: coagulation system.
Acta biochim. pol. 6, 43 (1959)

- 96) NUSSBAUM, M.,
MORSE, B.S.: Plasma fibrin stabilizing factor
activity in various diseases.
Blood 23, 669 (1964)
- 97) QUICK, A.J.: The prothrombin in hemophilia and in
obstructive jaundice.
J.biol.chem. 109, 73 (1935)
- 98) RABINER, S.F.,
ROBBINS K.C.: Studies on fibrinolysis. I. A cir-
culating substance capable of con-
verting plasmin-sensitive substance
to resistant clots.
Proc.Soc.Exper.Biol.a.Med.
111, 701 (1962)
- 99) RATNOFF, O.D.,
MENZIE, C.: A new method for the determination
of fibrinogen in small samples of
plasma,
J.Lab. a.Clin.Med. 37, 316 (1951)
- 100) RAPAPORT, S.I.,
SCHIFFMANN, S.,
AMES, S.B.: Activation of antihemophilic globulin
by traces of thrombin: an essential
step in intrinsic prothrombinase
generation.
In: The hemophilias K.M.Brinkhous
ed.Chapel Hill, The University of
north carolina press, 1964 P.214
- 101) ROBBINS, K.C.: A study of the conversion of fibrin-
ogen to fibrin.
Amer. J.Physiol., 142, 581 (1944)
- 102) RODRIGUEZ-ERDMANN, F.: Über eine einfache Methode zur wieder-
holten Blutgewinnung beim Kaninchen.
Pflügers Arch. ges.Physiol.
269, 306 (1959)
- 103) RODRIGUEZ-ERDMANN, F.: Studies on the pathogenesis of the
generalized Shwartzman reaction.
II.Role played by experimentally
induced fibrinolysis.
Thromb. Diath. Haemorrh. 12, 462 (1964)

- 104) RODRIGUEZ-ERDMANN, F.: Studies on the pathogenesis of the generalized Schwartzman reaction.
III. Trigger mechanism for the activation of the prothrombin molecule.
Thromb.Diath.Haemorrh. 12 471 (1964)
- 105) RODRIGUEZ-ERDMANN, F.; Qualitative und quantitative Störungen der Thrombocyten nach Injektion hochmolekularer Polymerer
LASCH, H.-G.: (Ein Beitrag zum Sanarelli-Schwartzman-Phänomen)
Thromb.Diath.Haemorrh. 5, 518 (1961)
- 106) RODRIGUEZ-ERDMANN, F., Die Rolle von intravasal auftretendem Thrombin beim Sanarelli-Schwartzman-Phänomen.
LASCH, H.-G.: Verhdl.8.Kongr.Europ.Ges.Hämat.
Wien 1961, Karger, Basel 1962 S.468
- 107) SANARELLI, G.: Le Choléra expérimental.
Ann.Inst.Pasteur 38, 11 (1924)
- 108) SCHULTZE, H.E., Die klinische Bedeutung der differenzierten Bestimmung von Prothrombin und Acceleratoren der Blutgerinnung.
SCHWICK, G.: Die Medizinische, 1354 (1953)
- 109) SEEGER, W.H.: Basic Enzymology of Blood Coagulation
Thromb.Diath.Haemorrh. 14, 213 (1965)
- 110) SEEGER, W.H., Protein equilibrium reactions in the blood clotting mechanism.
WARE, A.G.: Transact.Ist.Conf. Blood Clotting and All. Probl.Josiah Macy, Jr. Foundation, New York, Febr.16
p.64 (1948)

- 119) TOCANTINS, L.M., In: Blood coagulation, hemorrhage
KAZAL, L.A.: and thrombosis.
Grune & Stratton, N.Y.London (1964)
- 120) TYLER, H.M., A tissue fibrin-stabilizing factor
LACK, C.H.: and fibrinolytic inhibition.
Nature, 202, 1114 (1964)
- 121) VINAZZER, H.: Der Einfluß von Heparin auf die akute
Verbrauchskoagulopathie und die nach-
folgende Hyperkoagulämie.
Thromb.Diath.Haemorrh. 19, 255 (1968)
- 122) WARE, A.G., Serum ac.-globulin: formation from
SEEGERS, W.H.: plasma ac.-globulin; role in blood
coagulation; partial purification;
properties; and quantitative deter-
mination.
Amer.J.Physiol. 152, 567 (1948)
- 123) WEBER, E., Veränderungen der Thrombozytenukleo-
MALESSA, A., tide beim Sanarelli-Schwartzman-
LASCH, H.-G.: Phänomen.
Thromb. Diath. Haemorrh. 2, 304 (1963)
- 124) WEINER, M., Hyperfibrinogenaemia. Report of a
FARHANGI, M.: case.
J. A. M.A. 182, 681 (1962)

Herrn Professor Dr. H.G. L a s c h danke ich für
die Überlassung des Themas.

Herrn Dr. D. L. H e e n e gilt mein besonderer
Dank für seine freundliche Hilfe und seine wert-
vollen Anregungen bei der Durchführung der Unter-
suchungen.

Herrn Dr. G. M ü l l e r - B e r g h a u s sei an
dieser Stelle für die histologische Untersuchung
der Präparate herzlichst gedankt.

L e b e n s l a u f

Am 23. Juli 1942 wurde ich, Christoph Andreas Körting, als 3. Kind des Fabrikanten Friedrich Otto Körting und seiner Ehefrau Elfriede geb. Neßler in Leipzig/Sachsen geboren.

Meine ersten Grundschuljahre verbrachte ich in Leipzig. Im Februar 1953 floh meine Mutter mit mir und meinen drei Geschwistern nach Westdeutschland, nachdem mein Vater bereits im Januar 1950 die Zone illegal verlassen hatte, um in Westdeutschland unser enteignetes und demontiertes Familienunternehmen wieder aufzubauen.

In Limburg/Lahn besuchte ich den neusprachlichen Zweig des Tilemann-Gymnasiums und legte im März 1962 die Reifeprüfung ab.

In den Jahren 1962/63 leistete ich als Freiwilliger meinen zweijährigen Wehrdienst bei der 1. Gebirgsdivision ab und wurde zum Leutnant der Reserve befördert.

Im Sommersemester 1964 begann ich mit dem Studium der Medizin an der Justus Liebig-Universität in Gießen und bestand hier im April 1965 die naturwissenschaftliche Vorprüfung und im Oktober 1966 die ärztliche Vorprüfung. Im Januar 1970 legte ich die ärztliche Prüfung ab.

Die dieser Arbeit zugrunde liegenden experimentellen Untersuchungen wurden in der Zeit von Frühjahr 1967 bis Herbst 1968 in der Medizinischen Universitätsklinik in Gießen durchgeführt.

Foto-Druck

Chemoprint OHG.

Gießen